



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA

Biometec
Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università di Catania

5.1.

Catania, 15/05/ 2018

Ai Componenti del Consiglio del Biometec
Università di Catania
SEDE

Oggetto: richiesta autorizzazione incarichi di docenza esterna nell'ambito del Master "Discipline Regolatorie del Farmaco".

In qualità di Coordinatore del Master in oggetto, allego l'elenco dei docenti esterni al fine di procedere all'affidamento di alcuni degli insegnamenti nell'ambito del suddetto Master.

Dovendo assicurare la copertura degli insegnamenti autorizzo l'affidamento dei sottoelencati incarichi che saranno oggetto di ratifica alla prossima seduta del Consiglio del Biometec.

Dott. ssa Annarita Meneguez

Titolo del seminario: Valutazione degli studi non clinici e Norme di buona pratica di laboratorio

Durata del seminario: 8 ore giorni 18 e 19 maggio 2018

Titolo gratuito: rimborso spese

Dott. Mario Bruzzone

Titolo del seminario: La regolamentazione dei farmaci in Italia

Durata del seminario: 8 ore giorni 25 e 26 maggio 2018

Titolo gratuito: rimborso spese

Dott. Caruso Giuseppe

Titolo del seminario: Sperimentazione clinica i soggetti anziani e strategie e tecnologie innovative per la ricerca e lo sviluppo dei farmaci.

Durata del seminario: 8 ore giorni 29 e 30 maggio 2018

Titolo gratuito: rimborso spese

Cordiali saluti.

Il Direttore del Dipartimento

Prof. Filippo Drago



UNIVERSITA' DI CATANIA	
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE	
Titolo ...111... Classe ...2... Alleg. ...1...	
N° ...64842...	DATA 15-05-2018

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Direzione e Uffici Amministrativi
Via Santa Sofia 64, 95125 Catania
Tel. 095/7384236; 095/7384245; 095/7384084



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA



6.1.

Sezione di Biologia e Genetica

Catania, 25 maggio 2018

Al Direttore
del Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università degli Studi
SEDE

Oggetto: proposta stipula convenzione per collaborazione scientifica tra l'Istituto di Ricerche Genetiche (IRG) di Napoli e l'Università degli Studi di Catania, Biometec

Trasmetto in allegato uno schema di convenzione da stipulare tra l'Istituto di Ricerche Genetiche (IRG) di Napoli e l'Università degli Studi di Catania, Biometec. L'IRG è una struttura attiva dal 1994 con lo scopo di fornire servizi diagnostici innovativi e promuovere iniziative di ricerca applicata in medicina fetale e biologia della riproduzione.

Chiedo alla S.V. di portare la suddetta proposta al prossimo Consiglio di Dipartimento.

Cordialità

Prof.ssa Cinzia Di Pietro

UNIVERSITA' DI CATANIA	
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE	
Titolo ...111... Classe ...14... Alleg. ...1...	
N° ...71322...	DATA ...28-05-2018...

CONVENZIONE TRA
IRG S.R.L. - ISTITUTO DI RICERCHE GENETICHE DI NAPOLI
E
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA
AI FINI DELLA COLLABORAZIONE SCIENTIFICA RIGUARDANTE
LA BIOMEDICINA DELLA RIPRODUZIONE

Tra

L'IRG Istituto di Ricerche Genetiche S.r.l. (di seguito indicato come IRG), cod. fisc. e partita IVA n.06833760637, rappresentata dal Dott. Giovanni Russo, domiciliato per la sua carica di amministratore unico presso la sede legale in Napoli, Via E.Suarez n.10;

e

l'Università degli Studi di Catania - Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, (di seguito indicato come Università), Cod. Fisc.- P. IVA n. 02772010878, rappresentato dal Prof. Francesco Basile nella sua qualità di Rettore Pro-tempore, domiciliato per la sua carica nella sede di Piazza Università 2, 95100 Catania

si conviene e si stipula quanto segue

ART.1

La finalità della presente convenzione è di avviare e regolare una collaborazione tra IRG e l'Università al fine di promuovere programmi di ricerca di comune interesse, favorendo lo scambio di informazioni tra i ricercatori coinvolti nella ricerca, l'apprendimento e l'utilizzo di tecnologie innovative e la realizzazione dei programmi di ricerca comuni, nonché alla valorizzazione di tutte le possibili sinergie tra mondo produttivo e mondo scientifico.

Le singole attività ed iniziative saranno oggetto di specifici accordi tra le parti in armonia con i principi stabiliti nella presente convenzione.

Le attività di ricerca riguarderanno la collaborazione nello sviluppo nei settori della biologia e medicina della riproduzione con particolare riferimento ad attività di genomica, trascrittomica, diagnostica, e biotecnologie. In particolare le parti individueranno congiuntamente le misure di finanziamento adeguate allo sviluppo di attività di ricerca e di network.

ART.2

La presente convenzione quadro si intende propedeutica a specifici accordi di durata temporale ben definita per ogni attività congiunta, comprese quelle svolte per servizi in conto terzi.

ART.3

L'esecuzione della presente convenzione è affidata, per quanto riguarda IRG al suo Legale rappresentante Dott. Giovanni Russo e per quanto riguarda l'Università al Direttore pro-tempore del Dipartimento, Prof. Filippo Drago.

Nell'ambito di questo accordo, il Responsabile Scientifico per l'Università è la Prof.ssa, Cinzia Santa Di Pietro e per l'IRG il dr Domenico Valerio. I predetti referenti scientifici si impegnano ad effettuare incontri periodici per valutare l'andamento delle attività oggetto dell'accordo nonché ad informarsi reciprocamente in ordine ad eventi o difficoltà che, nel corso del rapporto, dovessero condizionare il raggiungimento degli obiettivi fissati.

ART. 4

Per l'esecuzione di tutte le attività previste dalla presente convenzione potranno essere utilizzati sia strumenti di proprietà del IRG che strumenti di proprietà dell'Università, previa stipula, ove richiesto e/o necessario, di accordi formali sulle procedure per l'utilizzazione delle attrezzature scientifiche e tecniche di proprietà delle rispettive strutture.

Ciascuna delle due strutture si impegna a garantire la manutenzione ordinaria e straordinaria delle proprie attrezzature e mezzi tecnici, messi a disposizione per l'esecuzione della presente convenzione.

ART. 5

L'IRG, previo accordo e nel contesto delle attività di cui all'ART. 1, potrà ospitare presso le proprie strutture personale dipendente e/o a contratto dell'Università, inclusi dottorandi, laureandi, borsisti, contrattisti ed assegnisti di ricerca per attività di ricerca e/o coordinamento dell'attività di ricerca e, reciprocamente, l'Università previo accordo e nel contesto delle attività di cui all'ART. 1, potrà accogliere personale dipendente o a contratto della IRG presso la sede o presso le sezioni del Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, o, ove opportuno, in altra struttura dell'Ateneo.

Ciascuna parte provvederà alle coperture assicurative di legge del proprio personale che, in virtù del presente contratto, verrà chiamato a frequentare le sedi di esecuzione delle attività. Il personale di entrambe le parti contraenti è tenuto ad uniformarsi ai regolamenti disciplinari e di sicurezza in vigore nelle sedi di esecuzione delle attività attinenti al presente contratto, nel rispetto reciproco della normativa per la sicurezza dei lavoratori di cui al D.Lgs. n. 626/94 e al D.Lgs. n. 81/08 e successive modificazioni e integrazioni, osservando in particolare gli obblighi di cui all'art. 5 del citato decreto, nonché le disposizioni del responsabile del servizio di prevenzione e protezione del rispettivo ente.

Le parti si impegnano inoltre a dare l'opportuna informazione sulle norme di sicurezza e sui comportamenti da tenere nello svolgimento di attività reputate pericolose ai sensi del D.Lgs. n. 626/94 e al D.Lgs. n. 81/08 e successive modificazioni e integrazioni.

ART. 6

L'IRG e l'Università si impegnano a menzionare reciprocamente l'altra parte in ogni opera o scritto scientifico relativo ai programmi di attività svolti presso o con il concorso di una delle parti nel quadro della presente convenzione.

Nel caso di risultati di ricerca oggetto di protezione della proprietà intellettuale, questa verrà regolata di volta in volta in funzione del contributo di ognuna delle parti.

Le parti si impegnano comunque a garantire, per sé e per il proprio personale, la massima riservatezza riguardo alle informazioni, incluse quelle di carattere tecnico-scientifico

ottenute nello svolgimento delle attività, a non divulgarle a terzi e ad utilizzarle esclusivamente per il raggiungimento delle finalità oggetto della presente convenzione.

ART. 7

Ai sensi di quanto previsto dal D.Lgs. 196/2003 e successive modificazioni, le Parti dichiarano di essere state informate circa l'utilizzo dei dati personali che verranno utilizzati nell'ambito di trattamenti automatizzati o cartacei di dati ai fini della esecuzione del presente atto.

Le parti dichiarano altresì che i dati forniti con il presente atto sono esatti e corrispondono al vero esonerandosi reciprocamente da ogni e qualsivoglia responsabilità per errori materiali di compilazione ovvero per errori derivanti da una inesatta imputazione negli archivi elettronici o cartacei di detti dati.

Ai sensi della normativa indicata, tali trattamenti saranno improntati ai principi di correttezza, liceità e trasparenza e nel rispetto delle norme di sicurezza.

Sottoscrivendo il presente atto le parti dichiarano di essersi reciprocamente comunicate oralmente tutte le informazioni previste dalla richiamata normativa ivi comprese quelle relative ai nominativi del responsabile e del titolare e le modalità di esercizio dei diritti dell'interessato previsti dal D.Lgs. 196/2003 e successive modificazioni.

ART. 8

L'Azienda dichiara di aver preso visione del Codice etico emanato dall'Università con D.R. n. 2637 del 6.8.2015 e del Codice di comportamento dell'Università emanato con D.R. n. 2352 del 5.6.2014, pubblicati sul sito web dell'Ateneo e di impegnarsi ad osservare e a far osservare ai propri collaboratori, per quanto compatibili con il ruolo e con l'attività svolta, gli obblighi di condotta in essi previsti, nonchè di essere consapevole che la violazione di tali obblighi di condotta può costituire causa di risoluzione del presente accordo, fermo restando l'eventuale risarcimento del danno.

ART. 9

La presente convenzione quadro decorre dalla data dell'ultima firma apposta e avrà la validità di anni cinque.

Il rinnovo può essere effettuato, con l'accordo delle parti, mediante lettera raccomandata A.R. o PEC, salvo che una delle parti non dia disdetta almeno tre mesi prima della scadenza mediante lettera raccomandata A.R. o PEC

Le parti potranno recedere dal presente contratto in ogni tempo, con preavviso di 90 giorni

ART. 10

In caso di controversia nell'interpretazione o esecuzione del presente contratto, la questione verrà in prima istanza definita in via amichevole. Qualora non fosse possibile, il foro competente sarà quello competente per legge

ART. 11

Il presente atto redatto in triplice copia è soggetto a registrazione in caso d'uso ai sensi degli Art. 5, 6, 39, e 40 del D.P.R. 131 del 26.4.1986. Le spese dell'eventuale registrazione sono a carico della parte che la richiede.

Le spese di bollo, ove dovute, relativamente agli accordi di cui agli Art. 1 e 2, sono a carico dell'Università.

Napoli, li

I.R.G. S.R.L.
Via Suarez, 10 - 80129 NAPOLI
Cod. Fisc. e Part. IVA 06833760637
Il legale Rappresentante
Dr. Giovanni Russo

Catania li

Università degli Studi di Catania

Il Rettore
Prof. Francesco Basile



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA

Biometec

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università di Catania



6.2.

Sezione di Biochimica Medica

Catania, 25 maggio 2018

Al Direttore del
Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università degli Studi
SEDE

Oggetto: richiesta stipula contratto di ricerca tra la società Gnosis S.p.A. e l'Università degli Studi di Catania, Biometec.

Trasmetto in allegato la documentazione per la stipula del contratto di ricerca tra la società Gnosis S.p.A. e l'Università degli Studi di Catania, Biometec avente per oggetto l'affidamento dell'incarico riguardante lo studio del ruolo protettivo di (6S)5MHTF in modello animale di neurodegenerazione.

Prego la S.V. di voler sottoporre la suddetta documentazione alla prossima riunione utile del Consiglio del Biometec.

Cordialità

Prof. Vittorio Calabrese

Vittorio Calabrese

INCARICO DI COLLABORAZIONE DI RICERCA TRA
SOCIETA' GNOSIS S.P.A. E UNIVERSITA' DEGLI
STUDI DI CATANIA, DIPARTIMENTO DI SCIENZE
BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE

La Ditta Gnosis S.p.A., di seguito nominata Contraente, con sede legale in Piazza del Carmine 4, Milano e sede operativa in Via Lavoratori Autobianchi, 1 – 20832 Desio (MB), P.IVA 02484720129, in persona del suo legale rappresentante l'Amministratore Delegato, Renzo Berna
e

l'Università degli Studi Catania attraverso il proprio **Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche**, con sede in Piazza Università n. 2 – 95131 Catania, codice fiscale 02772010878, in persona dell'avv. Rosanna Branciforte, dirigente dell'Area dei Rapporti Istituzionali e con il Territorio, su delega del Direttore Generale, giusta D.D. del 4.09.2017, n. 3173 (di seguito indicata come "Università")

CONVENGONO E STIPULANO QUANTO SEGUE:

Art. 1

Oggetto del contratto

Il Contraente affida all'Università degli Studi di Catania - Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, che accetta, un incarico consistente nello "Studio del Ruolo protettivo di (6S)5MHTF in modello animale di neurodegenerazione (vedi protocollo sperimentale allegato) da svolgersi presso il Dipartimento medesimo

Art. 2

Responsabilità scientifica

Il Responsabili scientifici designati dalle parti per la gestione del presente contratto sono:

per il Contraente il Dr. Niccolò Miraglia;
per l'Università il Prof. Vittorio Calabrese

Art. 3

Durata e luogo di esecuzione

Le attività oggetto del presente contratto dovranno svolgersi entro 12 mesi a decorrere dalla data di sottoscrizione del contratto stesso.

I lavori relativi all'oggetto del presente contratto saranno svolti presso il Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Sezione di Biochimica Medica, via S. Sofia 97 – 95123 Catania.

Ciascuna Parte provvederà, in base alla legislazione vigente, alla formazione e all'informazione delle unità di personale che frequenterà le rispettive sedi sulle procedure interne e sugli eventuali rischi specifici, pur restando a carico delle Parti di provenienza i rimanenti obblighi assicurativi, contributivi, di tutela sanitaria e di sicurezza sui posti di lavoro.

Art. 4 Corrispettivo

Il corrispettivo per l'esecuzione delle attività oggetto del presente incarico, è fissato in € 23.000,00 (ventitremila/00), più IVA.

Art. 5

Modalità di pagamento

Il Contraente verserà all'Università degli Studi di Catania - Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche la somma di cui al precedente art. 4 con le seguenti modalità:

- Il 50 % dell'ammontare totale del contratto al momento della stipula;
- Il 25% dopo sei mesi dall'avvio dello studio;
- Il 25% al termine della sperimentazione, previo invio della relazione finale.

Art. 6 Proprietà dei risultati

I risultati delle elaborazioni effettuate concernenti il caso specifico su cui saranno sperimentate e messe a punto le metodologie, sono di esclusiva proprietà del contraente.

I risultati, invece, più propri della ricerca, consistenti nella definizione e descrizione della procedura messa a punto sono di proprietà di entrambe le parti contraenti, l'Università degli Studi di Catania – Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche ed il Contraente, che di detti risultati possono fare anche uso nell'ambito dei loro compiti istituzionali.

Le parti, inoltre, si impegnano a non utilizzare i risultati ottenuti per fini bellici.

Art. 7 Riservatezza

L'Università degli Studi di Catania – Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche si impegna a non portare a conoscenza di terzi informazioni, dati tecnici, documenti e notizie di carattere riservato, riguardante il Contraente di cui fosse a conoscenza in forza della presente Convenzione.

Art. 8
Recesso

Le Parti potranno recedere dal presente contratto in ogni tempo con preavviso di 90 giorni.

Tale preavviso dovrà essere notificato alla controparte con lettera raccomandata con ricevuta di ritorno o PEC.

In tal caso sono fatte salve le spese sostenute e gli impegni assunti alla data di comunicazione del recesso.

Art. 9
Codice etico e di comportamento

Il Contraente dichiara di aver preso visione del Codice etico emanato dall'Università con D.R. n. 2637 del 6.8.2015 e del Codice di comportamento dell'Università emanato con D.R. n. 2352 del 5.6.2014, pubblicati sul sito web dell'Ateneo all'indirizzo <http://www.unictiecontent/atti-generalis>.

Il Contraente si impegna ad osservare e a far osservare ai propri collaboratori, per quanto compatibili con il ruolo e con l'attività svolta, gli obblighi di condotta in essi previsti, nonché di essere consapevole che la violazione di tali obblighi di condotta costituisce causa di risoluzione della presente convenzione, fermo restando l'eventuale risarcimento del danno.

Art. 10
Legge applicabile e Foro Competente

Il presente contratto è disciplinato dalla Legge Italiana.

Tutto quanto non espressamente disciplinato dal Contratto è sottoposto alle norme contenute nel codice civile e nelle leggi speciali, applicabili in base alla natura e alle caratteristiche dell'attività oggetto del Contratto stesso.

In caso di controversia nell'interpretazione o esecuzione del presente contratto, la questione verrà in prima istanza definita in via amichevole. Qualora non fosse possibile, il foro competente sarà quello stabilito per legge.

Art. 11
Registrazione e spese

Il presente Contratto redatto in duplice copia sarà registrato solo in caso d'uso e a taxa fissa ai sensi degli artt. 5 comma secondo e 39 del DPR n. 131/86 e le relative spese saranno a carico della Parte che ne chiederà la registrazione.

Catania lì _____

Per L'Università degli Studi di Catania

Il Direttore generale

Avv. Candeloro Bellantoni

Per la Ditta

Il Legale Rappresentante

Dott.



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA



Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università di Catania

Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

Prof. Vittorio Calabrese
DIRECTOR

**School of Clinical Pathology and Clinical Biochemistry,
Faculty of Medicine, University of Catania
Via Santa Sofia 64, 95125 Catania**

Research Project

PROTECTIVE ROLE OF (6S)5-metil tetraidrofolato (6S)5-MTHF) IN IN VIVO ANIMAL STUDY OF NEURODEGENERATION

Rationale

The elevation in life span of the population in the western world caused an elevated frequency of neurodegenerative diseases, like Parkinson and Alzheimer's disease. Finding drugs to these diseases is of main importance since to most of these diseases there are no effective drugs, and the current drugs cause undesired side effects. Neurodegenerative diseases have multifactorial pathogenesis, which involves a neuroinflammatory process. This process plays a pivotal role in the initiation and progression of various neurodegenerative diseases and involves the activation of two main cell types in the brain – astrocytes and microglia. Inhibition of the activated cells may provide an effective therapeutic intervention that might alleviate the progression of the neurodegenerative diseases. Few in vivo and in vitro studies have examined the beneficial effects of herbal medicine on neurodegenerative diseases, but most of them were concentrated on various aspects related to neurons (e.g. neuroprotection) which their death is the final step in the degenerative process. However, there has not been focus on the prevention of early stages involving glial cell activation and neuroinflammation. Neurodegenerative diseases result from the gradual and progressive loss of neural cell function, leading to nervous system dysfunction. Since neurodegenerative diseases have multifactorial pathogenesis, no completely effective preventive or curative treatments have been developed, and current treatments cause undesirable side effects (1-4).

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Direzione e Uffici Amministrativi
Via Santa Sofia 64, 95125 Catania
P. IVA 02772010878



Neuroinflammation is defined as an inflammatory response organized within the nervous system, which rises following the exposure to a trigger directly acting within the central nervous system or via a systemic (“peripheral”) inflammatory response (2,3). This response is primarily mediated by microglia. In addition astrocytes, neurons, oligodendrocytes and vascular pericytes participate in cytokines related neuroinflammatory processes. Available evidence shows that cytokines play also a role in cognitive processes and may be implicated in the pathogenesis of major neurodegenerative disorders as well as psychiatric disorders such as major depression, dementia, schizophrenia and Autism Spectrum Disorders (ASDs). Inflammatory cytokines represent key elements in the communication existing between immune vs. surrounding cells, regulating tissue responses to infection, inflammation and stress. The neuroinflammatory response is not only confined to glial cells. Macrophages, perivascular monocytes, and lymphocytes (T and B cells) may be recruited within the CNS and participate in magnifying the local response to an acute or chronic CNS insult. Lipoxin A4 (LXA4) is an endogenously produced eicosanoid, inhibits neutrophil recruitment and activation, reduces many cell responses evoked by pathogens and pro-inflammatory cytokines, blocks the generations of pro-inflammatory cytokines and toxic compounds including ROS, promotes resolution of inflammation, and acts as an endogenous “braking signal” in the inflammatory process. LXA4 action is mediated by LXA4 receptor (ALX) on cellular membrane, which is known as formyl-peptide receptorlike 1 (FPRL1). Besides the anti-inflammatory role of LXA4, LXA4-evoked expression of HO-1 may be also involved in the LXA4-imparted protective effects on brain (5). Our speculation is supported by several investigations which demonstrated that LXA4 and aspirin triggered LXA4 amplified HO-1 gene expression in human corneal epithelial cells, endothelial cells and lung tissues. Since it remains unclear whether LXA4 increases HO-1 expression in brain and whether LXA4-induced HO-1 is involved the LXA4-imparted protective role on neuronal injury, the current studies will be also undertaken to clarify the above questions. Several reports demonstrated that signaling pathways in HO-1 expression involved in the mitogen-activated protein kinase (MAPK), phosphatidylinositol-3-kinase (PI3-K)/Akt pathways, nuclear factor- E2-related factor 2 (Nrf2), and antioxidant responsive element (ARE) in promoter of HO-1 gene. The transcription factor Nrf2, which interacts with AREs, has



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

recently emerged as a major player in the transcriptional activation of HO-1. The signaling molecules involved in HO-1 gene induction are activated in an inducer-specific manner and cell-specific manner. For example, tyrosine kinase inhibitors, but not inhibitors of the extracellular signal-regulated kinase (ERK) and p38 MAPK pathways, attenuated induction of the HO-1 by hemin, sodium arsenite, and cadmium chloride in human HeLa cells. Conversely, statins might activate protein kinase G to elicit activations of ERK and p38 MAPK pathways and finally induce HO-1 gene expression. However, nitric oxide stimulates HO-1 gene expression via the activation of the Nrf2/ARE complex, independent of the MAPK or PI3-K/Akt pathways. Up to now, previous studies have not explored the signal transduction involved in LXA4-induced HO-1 expressions. Along this line, it is possible to speculate that p38 MAPK, ERK and Nrf2/ARE signal transduction may be involved in the LXA4-induced HO-1 expression. Aging can be thought of as the collision between destructive processes that act on cells and organs over the lifetime and the responses that promote homeostasis, vitality and longevity. However, the precise mechanisms that determine the rates of aging in organisms are not known. One major contributing cause is oxidative stress, as consequence of an imbalance in the prooxidant and antioxidant systems (6). Oxidative stress may cause reversible and/or irreversible modifications on sensitive proteins leading to structural, functional and stability modulations. Protein modifications such as carbonylation, nitration and protein-protein cross-linking are generally associated with loss of function and may lead to either the unfolding and degradation of the damaged proteins, or aggregation leading to accumulation as cytoplasmic inclusions, as observed in age-related neurodegenerative disorders. Oxidized proteins are highly sensitive to proteolytic degradation by the proteasome. Recent studies have shown that prolonged oxidized proteins are more resistant to degradation by proteasome. Moreover, post-translational modification can sometimes change the structure of proteins, which could then prevent the formation of the appropriate antigen-antibody complex.

Our laboratory is actively employing proteomics to study a wide variety of age related, oxidative stress-associated neurodegenerative diseases and models thereof (1-30). Consistent with this, molecular chaperones are known to disrupt aggregates but also to promote active aggregation when the concentration of the aggregating protein is high. Although protein aggregation is hazardous



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

under certain circumstances, the creation of apparently less-toxic large aggregates is protective. This hypothesis is the basis of the therapeutic potential of heat shock proteins (HSPs), which prevent protein misfolding and aggregation. The possibility of clinical change in the long term these pathophysiological conditions associated with increased cellular oxidative stress through a nutritional approach targeted, is a nutritional and therapeutic target of emerging clinical interest, the therapeutic advantages that would be a field of clinical application as ever extended since, as previously mentioned, the field of human pathologies in which such alterations are present is very broad and includes in addition to the major diseases of neurological interest, also systemic diseases such as diabetes and cancer. The heat shock protein system, together with the Nrf-2 related antioxidant genes, the GSH system, the Thioredoxin and Sirtuins systems represent an active and integrated cytoprotective network operating during stressful condition to allow cells and organs to survive to oxidative genotoxic and proteotoxic stresses that would otherwise lead to apoptosis and cell death, which are controlled by redox regulated genes which has been characterized in our laboratory as Vitagenes (5,6). Consistent with this notion, modulation of endogenous cellular defense mechanisms via the vitagene system represents an innovative approach to therapeutic intervention in diseases causing chronic tissue damage, such as in neurodegeneration. The possibility of high-throughout screening using proteomic techniques, particularly redox proteomics, provide more comprehensive overview of the interaction of proteins, as well as the interplay among processes involved in neuroprotection. Dietary antioxidants, have recently been demonstrated to be neuroprotective through the activation of hormetic pathways, including vitagenes. The hormetic dose-response, challenges long-standing beliefs about the nature of the dose-response in a lowdose zone, having the potential to affect significantly the design of pre-clinical studies and clinical trials as well as strategies for optimal patient dosing in the treatment of numerous diseases. Given the broad cytoprotective properties of the heat shock response there is now strong interest in discovering and developing pharmacological agents capable of inducing stress responses. Our research group has already shown the possible signaling mechanisms by which hormetic compounds by activating vitagenes can enhance defensive systems involved in bioenergetic and stress resistance homeostasis with consequent impact on aging processes.



Project Development

1. Study of the oxidative damage, redox status, mitochondrial complex activity, neuroinflammatory response in different brain regions of rat receiving for 42 days a daily oral dose of 0,8 mg/Kg (**6S**)**5-MTHF**) or vehicle in absence or presence of aluminium Chloride as animal model of Alzheimers. Oral administration of AlCl₃ (100 mg/kg b.w.) for 42 days significantly elevate the levels of Al, activity of acetyl cholinesterase and expressions of amyloid precursor protein, amyloid beta1-42, beta and gamma secretases, glial fibrillary acidic protein, ionized calcium binding adaptor molecule 1, interleukins -1 β , 6, 4, 2, tumor necrosis factor alpha, inducible nitric oxide synthase, nuclear factor- κ beta and cyclooxygenase-2 in the hippocampus and cortex compared to the control group.

Figure 1

DIET

HT/Hidro^R (50 mg/Kg)

Sucrose	50%
Fat	5%
Casein	20%
Corn meal	15%
Cellulose	5%
Mineral mix	3.5%
Vitamin mix	1%
Methionin	0.3%
Choline	0.2%

8 week treatment
6-8 g/mouse / day
0.2-0.4 mg/day HT/Hidro



Methods

Animal treatment

Rats will be fed daily for 7 weeks with food supplemented with the same dose of **(6S)5-MTHF** (0,8 mg/kg), in absence or in presence of oral administration of AlCl_3 (100 mg/kg b.w.) which is proven to significantly elevate the levels of Al , activity of acetyl cholinesterase and expressions of amyloid precursor protein, amyloid β 1-42, β and γ secretases, glial fibrillary acidic protein, ionized calcium binding adaptor molecule 1, interleukins -1 β , 6, 4, 2, tumor necrosis factor α , inducible nitric oxide synthase, nuclear factor- κ β and cyclooxygenase-2 in the hippocampus and cortex compared to the control group. At the end of treatment, rats will be checked for memory and behavioural tests (water maze, object recognition) The data will be reported in comparison with those obtained with GSH fed rat in order to assess any protection by GSH-derivative and any correspondence between histopathological features and behavioural tests. The experiments carried out in vivo with GSH-derivative are innovative and will fill the gap relative to the lack of knowledge about the behavioural effects of HT and their tissue correlates.

Mitochondrial enzyme Complex activity measurement

For the measurement of mitochondrial enzymatic activities, tissue will be homogenized in 0.8 ml of 0.9% NaCl and sonicated for 10 sec at 0-2°C in an ultrasonic disintegrator (power 150 W). NADH-CoQ1 reductase (complex I, EC 1.6.99.3) and succinate-cytochrome c reductase (complex II-III, EC 1.8.3.1) activities will be determined according to Schapira et al., 1990. Cytochrome c oxidase (complex IV, EC 1.9.3.1) activity will be determined according to the method of Warton and Tzagoloff (1967). ATP synthase (EC 3.6.1.34) will be measured according to Buckle et al., 1986.



Western blot analysis of cellular stress response proteins, protein carbonyls and HNE

Cytosolic extracts from brain and peripheral organs homogenate from differentially exposed groups will be prepared as previously described with slight modifications. Cell pellets will be centrifuged at 10,000 g for 10 min and the supernatant used for HO-1, HO-2, Hsp72, Hsp60, TRX1, TRX, Sirt-1, Sirt-2, UCP1, carbonyls and HNE levels determination, after dosage of proteins as described below. Aliquots (30 µg) of protein extract will be separated by SDS-PAGE, transferred to nitrocellulose membranes and then probed with antibodies. Appropriate secondary antibodies will be used and the immunoreactivity visualized using ECL (Amersham Biosciences). Immunodetection of HO-1, HO-2 and Hsp72 will be performed by using, respectively, a polyclonal rabbit anti-HO-1 (SPA-895) and anti-HO-2 (OSA-200) antibodies (Stressgen, 1:2000 dilution in PBS, pH 7.5) and a monoclonal mouse anti-Hsp70 antibody (SPA-810, Stressgen). When probed for Hsp60 and TRXr proteins, polyclonal goat anti-HSP60 antibody (sc-1052, Santa Cruz; 1:1000 dilution in PBS, pH 7.5) and polyclonal rabbit anti-TRXr-1 antibody (07-613, Upstate) will be used, respectively. For immunodetection of HNE, membranes will be incubated for 2 h at room temperature with anti-HNE (anti-4-hydroxy-2-Nonenal Michael adducts (393205, Calbiochem, San Diego, CA). Carbonyls groups will be estimated with a rabbit anti-Dinitrophenyl (DNP) antibody (V0401, DAKO; 1:1000 dilution in PBS pH, 7.5). All blots will be then visualized using a horseradish peroxidase-conjugated goat anti-rabbit or anti mouse IgG. A goat polyclonal antibody specific for β -actin will be used as a loading control (sc-1615 product of Santa Cruz; 1:1000 dilution in PBS pH, 7.5). For detection, the membranes will be incubated with a horseradish peroxidase-conjugated sheep anti-mouse immunoglobulin G (IgG), followed by ECL chemiluminescence (Amersham). The amount of inducible HO-1, Hsp72, Hsp60, Trx1, Trx, carbonyls and HNE will be quantified by scanning Western blot imaged films with a laser densitometer (LKB -Ultrosan, XL model). Multiple exposure of each blot will be used to ensure linearity of the film response.



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

Western blot analysis for GFAP, Bax, Bcl-2, NF- κ B, iNOS

Cytosolic and nuclear extracts brain and peripheral organs homogenate will be extracted from differentially exposed groups after suspension of cell pellet in extraction Buffer A containing 0.2mM PMSF, 0.15mM pepstatin A, 20mM leupeptin, 1mM sodium orthovanadate, homogenized at the highest setting for 2min, and centrifuged at 1000 \times g for 10min at 4 C. Supernatants represented the cytosolic fraction. The pellets, containing enriched nuclei, will be resuspended in Buffer B containing 1% Triton X-100, 150mM NaCl, 10mM Tris-HCl pH 7.4, 1mM EGTA, 1mM EDTA, 0.2mM PMSF, 20mM leupeptin, 0.2mM sodium orthovanadate. After centrifugation 30min at 15,000 \times g at 4C, the supernatants containing the nuclear protein were stored at -80 C for further analysis. NF- κ B p65 translocation was quantified in nuclear fraction. The filters will be blocked with 1 \times PBS, 5% (w/v) non fat dried milk (PM) for 40 min at room temperature and subsequently probed with specific Abs anti-Bax (1:500; Santa Cruz Biotechnology), anti-Bcl-2 (1:500; Santa Cruz Biotechnology), anti-NF- κ B p65 (1:1000; Santa Cruz Biotechnology), anti-iNOS (1:200; BD transduction) non fat dried milk, 0.1% Tween-20 (PMT) at 4 °C overnight. Membranes will be incubated with peroxidase-conjugated bovine anti-mouse IgG secondary antibody or peroxidase-conjugated goat anti-rabbit IgG (1:2000, Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) for 1h at room temperature. To ascertain that blots will be loaded with equal amounts of tissue lysates, they will be also incubated in the presence of the antibody against β -actin (1:10,000; Santa Cruz Biotechnology). The relative expression of the protein bands of Bax (~23kDa), Bcl-2 (26kDa), GFAP (50kDa), NF- κ B p65 and iNOS will be quantified by densitometric scanning of the X-ray films with GS-700 Imaging Densitometer (GS-700, Bio-Rad Laboratories, Milan, Italy) and a computer program (Molecular Analyst, IBM).

Glutathione (GSH) and glutathione disulfide (GSSG) assay

GSH and GSSG will be measured by the NADPH-dependent GSSG reductase method as previously reported (30). Cell homogenates will be homogenized on ice for 10 s in 100 mM potassium phosphate, pH 7.5, with 12 mM disodium EDTA. For total glutathione, an aliquots (0.1 ml) of homogenates will be immediately added to 0.1 ml of a cold solution containing 10 mM DTNB and



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

5 mM EDTA in 100 mM potassium phosphate, pH 7.5. The samples will be then mixed by tilting and centrifuged at 12,000 g for 2 min at 4°C. An aliquot (50 µl) of the supernatant will be added to a cuvette containing 0.5 U of GSSG reductase in 100 mM potassium phosphate and 5 mM EDTA, pH 7.5 (buffer 1). After 1 min of equilibration, the reaction will be initiated with 220 nmol of NADPH in buffer 1 for a final reaction volume of 1 ml. The formation of a GSH-DTNB conjugate will be then measured at 412 nm. The reference cuvette containing equal concentrations of DTNB, NADPH and enzyme, but not sample will be used. For assay of GSSG, aliquots (0.5 ml) of homogenate will be immediately added to 0.5 ml of a solution containing 10 mM N-ethylmaleimide (NEM) and 5 mM EDTA in 100 mM potassium phosphate, pH 7.5. The sample will be mixed by tilting and centrifuged at 12,000 g for 2 min at 4°C. An aliquot (500 µl) of the supernatant will be passed at one drop/s through a SEP-PAK C18 Column (Waters, Framingham, MA), previously washed with methanol followed by water. The column will be then washed with 1 ml of buffer 1. Aliquots (865 µl) of the combined eluates will be added to a cuvette with 250 nmol of DTNB and 0.5 U of GSSG reductase. The assay then will proceed as in the measurement of total GSH. GSH and GSSG standards in the ranges between 0 to 10 nmol and 0.010 to 10 nmol, respectively, added to control samples will be used to obtain the relative standard curves, and the results will be expressed in nmol of GSH or GSSG, respectively, per mg protein.

ELISA measurement of TNF- α , IL-1 β , IL-10 and Lipoxin A4

For the measurement of cytokines levels, cytosolic extracts from cell pellets of NPCs, neurons and glial cells from differentially exposed groups, will be homogenized in 1 ml PBS containing protease inhibitors (Complete protease inhibitor tablets, Roche). TNF- α , IL-1 β , IL-10 and Lipoxin A4 levels will be assayed using DuoSet ELISA Development System (R&D Systems). All assays will be carried out in duplicate using recommended buffers, diluents and substrates. Absorbency will be determined using a microplate reader at 450 nm (Thermo Scientific, Multiskan FC Microplate Photometer). The intra-assay coefficient of variations for both assays will be less than 10%. The concentration of the cytokines in the tissue will be mentioned as pg/mg protein.



References

1. Calabrese V., Cornelius C., Cuzzocrea S., Iavicoli I., Rizzarelli E., Calabrese EJ. (2011) Hormesis, cellular stress response and vitagenes as critical determinants in aging and longevity. *Mol Aspects of Med.* 32: 279-304.
2. Di Paola R., Impellizzeri D., Trovato Salinaro A., Mazzon E., Bellia F., Cavallaro M., Cornelius C., Vecchio G., Calabrese V., Rizzarelli E., Cuzzocrea S. Administration of carnosine in the treatment of acute spinal cord injury. (2011). *Biochem Pharm* 82, 1478-1489.
3. Calabrese V., Cornelius C., Dinkova-Kostova AT., Calabrese E.J., Mattson MP. (2010) Cellular stress responses, the hormesis paradigm and vitagenes: novel targets for therapeutic intervention in neurodegenerative disorders. *Antioxid Redox Signal.* 13, 1763-1811.
4. Calabrese V., Mancuso C., Calvani M., Rizzarelli E., Butterfield D.A., Giuffrida Stella A.M.. (2007) Nitric Oxide in the CNS: Neuroprotection versus Neurotoxicity. *Nature Neuroscience* 8, 766-775.
5. Edrey YH, Oddo S, Cornelius C, Caccamo A, Calabrese V, Buffenstein R. (2014) Oxidative damage and amyloid- β metabolism in brain regions of the longest-lived rodents. *J Neurosci Res.* 92: 195-205.
6. Davinelli S, Calabrese V, Zella D, Scapagnini G. (2014) Epigenetic nutraceutical diets in Alzheimer's disease. *J Nutr Health Aging.* Dec;18(9):800-5. doi: 10.1007/s12603-014-0520-6. PubMed PMID: 25389957.
7. Scapagnini G, Davinelli S, Kaneko T, Koverech G, Koverech A, Calabrese EJ, Calabrese V. (2014) Dose response biology of resveratrol in obesity. *J Cell Commun Signal.* 8: 385-391.
8. Calabrese V, Scapagnini G, Davinelli S, Koverech G, Koverech A, De Pasquale C, Salinaro AT, Scuto M, Calabrese EJ, Genazzani AR. (2014) Sex hormonal regulation and hormesis in aging and longevity: role of vitagenes. *J Cell Commun Signal.* 8: 369-384.
9. Davinelli S, Scapagnini G, Denaro F, Calabrese V, Benedetti F, Krishnan S, Curreli S, Bryant J, Zella D. (2014) Altered expression pattern of Nrf2/HO-1 axis during accelerated-senescence in HIV-1 transgenic rat. *Biogerontology.* 15: 449-461.
10. Cornelius C, Koverech G, Crupi R, Di Paola R, Koverech A, Lodato F, Scuto M, Salinaro AT, Cuzzocrea S, Calabrese EJ, Calabrese V. (2014) Osteoporosis and Alzheimer pathology: Role of cellular stress response and hormetic redox signaling in aging and bone remodeling. *Front Pharmacol.* 5:120. doi:10.3389/fphar.2014.00120. eCollection 2014.
11. Trovato Salinaro A, Cornelius C, Koverech G, Koverech A, Scuto M, Lodato F, Fronte V, Muccilli V, Reibaldi M, Longo A, Uva MG, Calabrese V. (2014) Cellular stress response, redox status, and vitagenes in glaucoma: a systemic oxidant disorder linked to Alzheimer's disease. *Front Pharmacol.* 5:129. doi:10.3389/fphar.2014.00129. eCollection 2014.



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

12. Currò M, Trovato-Salinaro A, Gugliandolo A, Koverech G, Lodato F, Caccamo D, Calabrese V, Ientile R. (2015) Resveratrol protects against homocysteine-induced cell damage via cell stress response in neuroblastoma cells. *J Neurosci Res.* 93: 149-156.
13. Davinelli S, Scapagnini G, Denaro F, Calabrese V, Benedetti F, Krishnan S, Curreli S, Bryant J, Zella D. (2014) Altered expression pattern of Nrf2/HO-1 axis during accelerated-senescence in HIV-1 transgenic rat. *Biogerontology.* 15: 449-461.
14. Cornelius C, Koverech G, Crupi R, Di Paola R, Koverech A, Lodato F, Scuto M, Salinaro AT, Cuzzocrea S, Calabrese EJ, Calabrese V. (2014) Osteoporosis and Alzheimer pathology: Role of cellular stress response and hormetic redox signaling in aging and bone remodeling. *Front Pharmacol.* 5:120. doi:10.3389/fphar.2014.00120. eCollection 2014.
15. Trovato Salinaro A, Cornelius C, Koverech G, Koverech A, Scuto M, Lodato F, Fronte V, Muccilli V, Reibaldi M, Longo A, Uva MG, Calabrese V. (2014) Cellular stress response, redox status, and vitagenes in glaucoma: a systemic oxidant disorder linked to Alzheimer's disease. *Front Pharmacol.* 5:129. doi:10.3389/fphar.2014.00129. eCollection 2014.
16. Calabrese V, Dattilo S, Petralia A, Parenti R, Pennisi M, Koverech G, Calabrese V, Graziano A, Monte I, Maiolino L, Ferreri T, Calabrese EJ. (2015) Analytical approaches to the diagnosis and treatment of aging and aging-related disease: redox status and proteomics. *Free Radic Res.* 49: 511-524.
17. Amadio M, Scapagnini G, Davinelli S, Calabrese V, Govoni S, Pascale A. (2015) Involvement of ELAV RNA-binding proteins in the post-transcriptional regulation of HO-1. *Front Cell Neurosci.* 8:459. doi: 10.3389/fncel.2014.00459.
18. Dattilo S, Mancuso C, Koverech G, Di Mauro P, Ontario ML, Petralia CC, Petralia A, Maiolino L, Serra A, Calabrese EJ, Calabrese V. (2015) Heat shock proteins and hormesis in the diagnosis and treatment of neurodegenerative diseases. *Immun Ageing.* 12:20. doi: 10.1186/s12979-015-0046-8. eCollection 2015.
19. Calabrese EJ, Dhawan G, Kapoor R, Iavicoli I, Calabrese V. (2015) What is hormesis and its relevance to healthy aging and longevity? *Biogerontology* 16:693-707.
20. Catino S, Paciello F, Miceli F, Rolesi R, Troiani D, Calabrese V, Santangelo R, Mancuso C. (2016) Ferulic Acid Regulates the Nrf2/Heme Oxygenase-1 System and Counteracts Trimethyltin-Induced Neuronal Damage in the Human Neuroblastoma Cell Line SH-SY5Y. *Front Pharmacol.* 8;6:305. doi: 10.3389/fphar.2015.00305.
21. Calabrese V., Davinelli S., Luca M., Zella D., Calabrese E.J., and Scapagnini G. (2015) Inflammaging, Oxidative Stress and Carnosine: Role of Hormetic Vitagenes. In: *Imidazole Dipeptides : Chemistry, Analysis, Function and Effects. Food and Nutritional Components in Focus.* January(8), pp. 238-256. EPUB eISBN: 978-1-78262-655-8. DOI:10.1039/9781782622611-00238.
22. Trovato A, Siracusa R, Di Paola R, Scuto M, Fronte V, Koverech G, Luca M, Serra A, Toscano MA, Petralia A, Cuzzocrea S, Calabrese V. (2016) Redox modulation of cellular stress response and lipoxin A4 expression by *Coriolus versicolor* in rat brain: Relevance to Alzheimer's disease pathogenesis. *Neurotoxicology.* 53:350-358.



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

23. Calabrese EJ, Dhawan G, Kapoor R, Iavicoli I, Calabrese V. (2016) HORMESIS: A Fundamental Concept with Widespread Biological and Biomedical Applications. *Gerontology*. 62:530-535.
24. Pennisi M, Crupi R, Di Paola R, Ontario ML, Bella R, Calabrese EJ, Crea R, Cuzzocrea S, Calabrese V. (2016) Inflammasomes, hormesis, and antioxidants in neuroinflammation: Role of NRLP3 in Alzheimer disease. *J Neurosci Res*. 2016 Nov 8. doi: 10.1002/jnr.23986.
25. Calabrese V, Giordano J, Signorile A, Laura Ontario M, Castorina S, De Pasquale C, Eckert G, Calabrese EJ. (2016) Major pathogenic mechanisms in vascular dementia: Roles of cellular stress response and hormesis in neuroprotection. *J Neurosci Res*. 94:1588-1603.
26. Calabrese V, Giordano J, Ruggieri M, Berritta D, Trovato A, Ontario ML, Bianchini R, Calabrese EJ. (2016) Hormesis, cellular stress response, and redox homeostasis in autism spectrum disorders. *J Neurosci Res*. 2016 Dec;94(12):1488-1498. doi: 10.1002/jnr.23893.
27. Trovato A, Siracusa R, Di Paola R, Scuto M, Ontario ML, Bua O, Di Mauro P, Toscano MA, Petralia CC, Maiolino L, Serra A, Cuzzocrea S, Calabrese V. (2016) Redox modulation of cellular stress response and lipoxin A4 expression by *Herichium Erinaceus* in rat brain: relevance to Alzheimer's disease pathogenesis. *Immun Ageing*. 13:23. doi: 10.1186/s12979-016-0078-8. eCollection 2016.
28. Calabrese V., Crea R. (2016). Potential prevention and treatment of Neurodegenerative Diseases: Olive polyphenols and hydroxytyrosol. *Eur. J. Neurodegenerative Diseases* 5: 81-108.
29. Barros A.B., Bell V., Ferrão J., Calabrese V., Fernandes T.H. (2016). Mushroom Biomass: Some Clinical Implications of β -Glucans and Enzymes. *Current Res. Nutrition and Food Science* 4: 37-47.
30. Paterniti I, Campolo M, Siracusa R, Cordaro M, Di Paola R, Calabrese V, Navarra M, Cuzzocrea S, Esposito E. (2017) Liver X receptors activation, through TO901317 binding, reduces neuroinflammation in Parkinson's disease. *PLoS One*. 12(4):e0174470.
31. Calabrese V, Giordano J, Crupi R, Di Paola R, Ruggieri M, Bianchini R, Ontario ML, Cuzzocrea S, Calabrese EJ. (2017) Hormesis, cellular stress response and neuroinflammation in schizophrenia: Early onset versus late onset state. *J Neurosci Res*. 95:1182-1193.
32. Calabrese E.J., Calabrese V., Giordano J. (2017) The role of hormesis in the functional performance and protection of neural systems. *Brain Circulation* 3: 1-13.
33. Wang D., Calabrese E.J., Lian B., Lin Z., Calabrese V. (2017) Hormesis as a mechanistic approach to understanding herbal treatments in traditional Chinese medicine. *Pharmacol Ther*. Nov 8. pii: S0163-7258(17)30263-2. doi:10.1016/j.pharmthera.2017.10.013.
34. Miquel S, Champ C, Day J, Aarts E, Bahr BA, Bakker M, Bánáti D, Calabrese V, Cederholm T, Cryan J, Dye L, Farrimond JA, Korosi A, Layé S, Maudsley S, Milenkovic D, Mohajeri MH, Sijben J, Solomon A, Spencer JPE, Thuret S, Vanden Berghe W, Vauzour D, Vellas B, Wesnes K, Willatts P, Wittenberg R, Geurts L. (2017) Poor cognitive ageing: Vulnerabilities, mechanisms and the impact of nutritional interventions. *Ageing Res Rev*. 42:40-55.



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

35. Calabrese V, Santoro A, Monti D, Crupi R, Di Paola R, Latteri S, Cuzzocrea S, Zappia M, Giordano J, Calabrese EJ, Franceschi C. (2017) Aging and Parkinson's Disease: Inflammaging, neuroinflammation and biological remodeling as key factors in pathogenesis. *Free Radic Biol Med.* 115: 80-91.
36. Peters V, Schmitt CP, Weigand T, Klingbeil K, Thiel C, van den Berg A, Calabrese V, Nawroth P, Fleming T, Forsberg E, Wagner AH, Hecker M, Vistoli G. (2017) Allosteric inhibition of carnosinase (CN1) by inducing a conformational shift. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 32(1):1102-1110.
37. Trovato Salinaro A, Pennisi M, Di Paola R, Scuto M, Crupi R, Cambria MT, Ontario ML, Tomasello M, Uva M, Maiolino L, Calabrese EJ, Cuzzocrea S, Calabrese V. (2018) Neuroinflammation and neurohormesis in the pathogenesis of Alzheimer's disease and Alzheimer-linked pathologies: modulation by nutritional mushrooms. *Immun Ageing.* 2018 Feb 14;15:8. doi: 10.1186/s12979-017-0108-1.
38. Calabrese EJ, Iavicoli I, Calabrese V, Cory-Slechta DA, Giordano J. (2018) Elemental mercury neurotoxicity and clinical recovery of function: A review of findings, and implications for occupational health. *Environ Res.* 9;163:134-148. doi: 10.1016/j.envres.2018.01.021.
39. Ahmad Rather M, Justin Thenmozhi A, Manivasagam T, Dhivya Bharathi M, Essa MM, Guillemin GJ. (2018) Neuroprotective role of Asiatic acid in aluminium chloride induced rat model of Alzheimer's disease. *Front Biosci* 10:262-275.

Catania 7.5.18

Prof. Vittorio Calabrese

Vittorio Calabrese



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche

PIANO ECONOMICO PREVISIONALE PER LA DETERMINAZIONE DEL CORRISPETTIVO

(Art.6 del Regolamento per le prestazioni conto terzi)

PROPOSTA DI CONTRATTO DI RICERCA PER:

Studio del ruolo protettivo di (6S)5MHTF in modello animale di neurodegenerazione (protocollo sperimentale allegato al contratto di ricerca)

RESPONSABILE SCIENTIFICO:

Prof. Vittorio Calabrese

COMMITTENTE:

Gnosis S.p.A.

DURATA:

8 mesi a decorrere dalla data di sottoscrizione

SPESE PER RISORSE UMANE INTERNE:

- Compenso al Responsabile scientifico	€	17.010,00	
- Compensi a Collaboratori	€		
- Spese per missioni	€	2.000,00	
			€ 19.010,00

SPESE PER RISORSE UMANE ESTERNE

- Compensi per contratti di collaborazione	€	
- Spese per missioni	€	
		€

SPESE PER CONSUMI DI DIRETTA IMPUTAZIONE:

- Materiale di consumo	€	1.000,00	
- Noleggio attrezzature	€		
- Spese diverse	€		
			€ 1.000,00

QUOTE SPESE GENERALI DELLA STRUTTURA

- Utilizzo locali e attrezzature, pulizia, telefoni, acqua, luce, ecc. (5% del corrispettivo richiesto)	€	1.150,00
---	---	----------

QUOTA AMMORTAMENTO DELLE IMMOBILIZZAZIONI UTILIZZATE:

Si prevede l'acquisto di:

- n.	del valore di €
Quota ammortamento (in base alla durata del contratto)	
I anno =	% €
II anno =	% €



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche

ACCANTONAMENTO FONDO RICERCA DI ATENEO

(quota non inferiore all'1% del corrispettivo richiesto)

€ 230,00

ACCANTONAMENTO FONDO COMUNE DI ATENEO

(quota pari al 4% del corrispettivo richiesto)

€ 920,00

**ACCANTONAMENTO PER FONDO SUPPORTO, LEGALE,
CONTABILE, FISCALE, DELL'AMM.NE CENTRALE ALLE
ATTIVITA' CONTO TERZI**

(quota pari all'1% del corrispettivo richiesto)

€ 230,00

TOTALE COSTI PRESUNTI

€ 22.540,00

UTILE PER LA REALIZZAZIONE DEL SERVIZIO

(quota non inferiore al 2% del corrispettivo richiesto)

€ 460,00

TOTALE DEL CORRISPETTIVO AL NETTO DI IVA

€ 23.000,00

Fondo di riserva (4% degli utili)

€ 18,40

Vittorio Palabone



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA

Biometec

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università di Catania



Sezione di Biochimica Medica

Catania, 25 maggio 2018

Al Direttore del
Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università degli Studi
SEDE

Oggetto: richiesta stipula contratto di ricerca tra la società Gnosis S.p.A. e l'Università degli Studi di Catania, Biometec.

Trasmetto in allegato la documentazione per la stipula del contratto di ricerca tra la società Gnosis S.p.A. e l'Università degli Studi di Catania, Biometec avente per oggetto l'affidamento dell'incarico riguardante lo studio del ruolo protettivo di derivati del glutathione nella steatosi epatica non alcolica (NAFLD) in vitro e in vivo".

Prego la S.V. di voler sottoporre la suddetta documentazione alla prossima riunione utile del Consiglio del Biometec.

Cordialità

Prof. Vittorio Calabrese

Vittorio Calabrese

INCARICO DI COLLABORAZIONE DI RICERCA TRA
SOCIETA' GNOSIS S.P.A. E UNIVERSITA' DEGLI
STUDI DI CATANIA, DIPARTIMENTO DI SCIENZE
BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE

La Ditta Gnosis S.p.A., di seguito nominata Contraente, con sede legale in Piazza del Carmine 4, Milano e sede operativa in Via Lavoratori Autobianchi, 1 – 20832 Desio (MB), P.IVA 02484720129, in persona del suo legale rappresentante l'Amministratore Delegato, Renzo Berna
e

l'Università degli Studi Catania attraverso il proprio **Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche**, con sede in Piazza Università n. 2 – 95131 Catania, codice fiscale 02772010878, in persona dell'avv. Rosanna Branciforte, dirigente dell'Area dei Rapporti Istituzionali e con il Territorio, su delega del Direttore Generale, giusta D.D. del 4.09.2017, n. 3173 (di seguito indicata come "Università")

CONVENGONO E STIPULANO QUANTO SEGUE:

Art. 1

Oggetto del contratto

Il Contraente affida all'Università degli Studi di Catania - Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, che accetta, un incarico consistente nello "Studio del Ruolo protettivo di derivati del glutathione nella steatosi epatica non alcolica (NAFLD) in vitro e in vivo (vedi protocollo sperimentale allegato) da svolgersi presso il Dipartimento medesimo

Art. 2

Responsabilità scientifica

Il Responsabili scientifici designati dalle parti per la gestione del presente contratto sono:

per il Contraente il Dr. Niccolò Miraglia;
per l'Università il Prof. Vittorio Calabrese

Art. 3

Durata e luogo di esecuzione

Le attività oggetto del presente contratto dovranno svolgersi entro 12 mesi a decorrere dalla data di sottoscrizione del contratto stesso.

I lavori relativi all'oggetto del presente contratto saranno svolti presso il Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Sezione di Biochimica Medica, via S. Sofia 97 – 95123 Catania.

Ciascuna Parte provvederà, in base alla legislazione vigente, alla formazione e all'informazione delle unità di personale che frequenterà le rispettive sedi sulle procedure interne e sugli eventuali rischi specifici, pur restando a carico delle Parti di provenienza i rimanenti obblighi assicurativi, contributivi, di tutela sanitaria e di sicurezza sui posti di lavoro.

Art. 4 Corrispettivo

Il corrispettivo per l'esecuzione delle attività oggetto del presente incarico, è fissato in € 23.000,00 (ventitremila/00), più IVA.

Art. 5

Modalità di pagamento

Il Contraente verserà all'Università degli Studi di Catania - Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche la somma di cui al precedente art. 4 con le seguenti modalità:

- Il 50 % dell'ammontare totale del contratto al momento della stipula;
- Il 25% dopo sei mesi dall'avvio dello studio;
- Il 25% al termine della sperimentazione, previo invio della relazione finale.

Art. 6 Proprietà dei risultati

I risultati delle elaborazioni effettuate concernenti il caso specifico su cui saranno sperimentate e messe a punto le metodologie, sono di esclusiva proprietà del contraente.

I risultati, invece, più propri della ricerca, consistenti nella definizione e descrizione della procedura messa a punto sono di proprietà di entrambe le parti contraenti, l'Università degli Studi di Catania – Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche ed il Contraente, che di detti risultati possono fare anche uso nell'ambito dei loro compiti istituzionali.

Le parti, inoltre, si impegnano a non utilizzare i risultati ottenuti per fini bellici.

Art. 7 Riservatezza

L'Università degli Studi di Catania – Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche si impegna a non portare a conoscenza di terzi informazioni, dati tecnici, documenti e notizie di carattere riservato, riguardante il Contraente di cui fosse a conoscenza in forza della presente Convenzione.

Art. 8
Recesso

Le Parti potranno recedere dal presente contratto in ogni tempo con preavviso di 90 giorni.

Tale preavviso dovrà essere notificato alla controparte con lettera raccomandata con ricevuta di ritorno o PEC.

In tal caso sono fatte salve le spese sostenute e gli impegni assunti alla data di comunicazione del recesso.

Art. 9
Codice etico e di comportamento

Il Contraente dichiara di aver preso visione del Codice etico emanato dall'Università con D.R. n. 2637 del 6.8.2015 e del Codice di comportamento dell'Università emanato con D.R. n. 2352 del 5.6.2014, pubblicati sul sito web dell'Ateneo all'indirizzo <http://www.unictiecontent/atti-generalis>.

Il Contraente si impegna ad osservare e a far osservare ai propri collaboratori, per quanto compatibili con il ruolo e con l'attività svolta, gli obblighi di condotta in essi previsti, nonché di essere consapevole che la violazione di tali obblighi di condotta costituisce causa di risoluzione della presente convenzione, fermo restando l'eventuale risarcimento del danno.

Art. 10
Legge applicabile e Foro Competente

Il presente contratto è disciplinato dalla Legge Italiana.

Tutto quanto non espressamente disciplinato dal Contratto è sottoposto alle norme contenute nel codice civile e nelle leggi speciali, applicabili in base alla natura e alle caratteristiche dell'attività oggetto del Contratto stesso.

In caso di controversia nell'interpretazione o esecuzione del presente contratto, la questione verrà in prima istanza definita in via amichevole. Qualora non fosse possibile, il foro competente sarà quello stabilito per legge.

Art. 11
Registrazione e spese

Il presente Contratto redatto in duplice copia sarà registrato solo in caso d'uso e a taxa fissa ai sensi degli artt. 5 comma secondo e 39 del DPR n. 131/86 e le relative spese saranno a carico della Parte che ne chiederà la registrazione.

Catania li _____

Per L'Università degli Studi di Catania

Il Direttore generale

Avv. Candeloro Bellantoni

Per la Ditta

Il Legale Rappresentante

Dott.



Prof. Vittorio Calabrese
DIRECTOR

**School of Clinical Pathology and Clinical Biochemistry,
Faculty of Medicine, University of Catania
Via Santa Sofia 64, 95125 Catania**

Research Project

PROTECTIVE ROLE OF GLUTATHIONE DERIVATIVES IN IN VITRO and IN VIVO ANIMAL STUDY OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE (NAFLD)

Rationale

The critical role of diet on the pathogenesis of obesity and obesity-associated disorders has been well-established. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common disease associated with obesity [1, 2] and is correlated with type 2 diabetes and cardiovascular risk [3]. NAFLD defines a wide spectrum of liver diseases which encompasses simple steatosis (NAFL), non-alcoholic steatohepatitis (NASH), cirrhosis and even hepatocellular carcinoma [4]. Steatosis consists of excess fat accumulation, mainly triglycerides (TGs), within cytosolic lipid droplets (LDs) [5]. Progression of NAFL to NASH is sustained by oxidative stress resulting from reactive oxygen species (ROS) deriving from fat catabolism [6, 7]. Oxidative stress, in fact, activates inflammatory signalling pathways such as that sustained by the nuclear factor kappa-B (NF- κ B), a transcription factor of the inflammatory response also involved in liver diseases [8].

For instance, olive oil, the main fat source of the Mediterranean diet, is an important contributor to human health in the mediterranean area [9]. The beneficial effects of olive oil have historically been attributed to oleic acid which may decrease LDL-cholesterol and LDL oxidation (a key step in atherosclerosis) [10–13]. Additional effects of olive oil include protection against heart disease and insulin resistance [14]. Other potentially beneficial components of Mediterranean diet are the phenolic compounds (PC), found primarily in plants and foods including tea, olive oil, red wine. PC



appear to prevent several diseases including cardiovascular diseases [15, 16]. Mechanisms involve the activation of several pathways governing immunomodulatory and vasodilatory properties [17].

Free fatty acids (FAs) are the major mediators of liver steatosis; in fact, patients with NAFLD have elevated levels of circulating FAs. The stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD-1) catalyses the synthesis of monounsaturated fatty acids (MUFA) from saturated ones (SFA) [20]. FAs are esterified to TGs and stored in cytosolic LDs as protection against their toxicity, or alternatively, FAs are metabolised through β -oxidation in mitochondria and peroxisomes and through ω -oxidation in the endoplasmic reticulum (ER) with consequent ROS production. Lipid metabolism is regulated by peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) [21]. Uptake of FAs into hepatocytes and their oxidation is regulated mainly by PPAR α , while the anabolic esterification and conversion of FAs to TGs is controlled by PPAR γ whose expression has been shown to increase in NAFLD [22, 23]. Both hepatocytes and endothelial cells participate in progression of fatty liver disease; in fact, obesity-related metabolic disorders cause endothelial dysfunction. Endothelium is a crucial blood–tissue interface controlling energy supply according to organ needs, as it is the first rate-limiting step in the utilisation of long-chain FAs as fuels. Endothelial cells play regulatory functions through releasing various factors including nitric oxide (NO) and ROS [24]. In the liver, the endothelial cells of sinusoids act in fibrosis development by sustaining wound healing response and inflammation [25, 26]. Wound healing process depends on endothelial cell migration which is mediated by the intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) on the plasma membrane [27]. Endothelium damage is one of the main metabolic abnormalities observed in NAFLD [28]. Endothelial cells form the sinusoid wall separating hepatocytes from blood and act in hepatic inflammation through their involvement in adhesion molecule-mediated recruitment of leukocytes [29]. Two major effector systems implicated in the vascular alterations associated with inflammation and atherosclerosis involve the generation of ROS and NO. Here, we loaded HECV cells of FAs to mimic what is occurring in vivo during high-fat feeding. Interestingly, exposure of lipid-loaded HECV cells to PEOP did not reduce lipid accumulation, rather increased it at the highest dose. Consistent with these effects on fat accumulation, the highest dose of PEOP led to increased expression of the adhesion molecule ICAM-1 on the cell membrane. *Icam1* expression is



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

typically increased by inflammatory mediators [30] such as those produced by excess fat accumulation. As a response to lipid-loading, endothelial cells released NO and produced ROS thus triggering proinflammatory events. NO modulates leukocyte-endothelial cell interactions by: (1) affecting leukocyte adhesion in the microcirculation through activation of NF- κ B; (2) inhibiting platelet aggregation; and (3) protecting cells from oxidative stress through its interaction with superoxide which acts as a proadhesive molecule [31]. PEOP extract significantly reduced the ROS level and the ROS dependent lipid peroxidation, as well as the NO release.

NO is a major vasodilative substance produced by the endothelium; at low levels NO is a second messenger playing beneficial effects, while high levels of NO may cause detrimental effects through its reaction with superoxide anion for example [32]. NO also influences endothelial cell migration which is responsible for the wound healing process that, together with inflammation, sustains the progression of fatty liver towards fibrosis [26]. Accordingly with their effects on NO release, it is relevant to observe the effect of GSH treatment on the rate of endothelial cell migration. The translational value of this study should not be overlooked since NAFLD and atherosclerosis share common metabolic abnormalities and NAFLD appears to be independently associated with cardiovascular disease. In conclusion, we show here that PEOP have potential beneficial on two key metabolic disorders of lipid metabolism, i.e. ameliorated hepatic lipid accumulation and endothelial and hepatic lipid-dependent oxidative imbalance.

Notably, PEOP may lead to a novel nutraceutical formulation, in which the nutritive characteristics of food can be enriched with the health benefits related to phenolic consumption.

Further studies should extend the seminal observations in the present study and test the beneficial effects of certain concentration of phenolic compounds on both liver and vascular morphology and function.

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a rising cause of chronic liver disease worldwide. Although the majority of patients with NAFLD have only steatosis without progression, a sizable fraction develop non-alcoholic steatohepatitis (NASH), which can lead to cirrhosis, hepatocellular carcinoma (HCC), and increased liver-related mortality[33]. The prevalence of NAFLD in the US population is estimated at ~24% (or ~65 million) and up to a third of these have NASH [34,352]. The



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

prevalence of NAFLD is steadily increasing in parallel to the rising prevalence of obesity. NAFLD/NASH is already the third leading indication for liver transplantation, and the second cause for HCC leading to liver transplantation in the US [36], and it is likely to be the leading indication for transplantation by 2020. Histologically, NASH is characterized by the presence of steatosis, inflammation, hepatocyte injury (ballooning), and/or fibrosis. Key risk factors include diabetes, obesity, age, ethnicity, gender, and genetic polymorphisms that can affect natural history and disease progression. These divergent risk factors reflect the complex and heterogeneous nature of the disease.

Despite the growing public health impact of NASH, treatment options remain limited and there are no FDA-approved therapies. One obstacle to drug development has been the paucity of standardized and relevant animal models. Although there are several dietary and genetic models of NASH described, few, if any, replicate all the metabolic, histologic and genetic features of the human diseases. Mice are generally preferable because they are easy to handle and suitable for drug testing. Also, dietary models are preferred because genetic models often induce NASH by manipulating one specific molecule/pathway. For example, a methionine/choline deficient (MCD) diet has traditionally been used to induce histological features of NASH; however, mice treated with MCD diet lose body weight, and do not develop insulin resistance and related co-morbidities [37,38].

A western diet (WD), which is high-fat, high-fructose and high-cholesterol, mimics fast food style diets that have been implicated in NASH pathogenesis in humans [39]. WD treatment induces obesity and insulin resistance in addition to NASH histology. However, the WD-based models do not fully progress to severe steatohepatitis and advanced fibrosis, even after long-term feeding for 25 to 52 weeks [40,41]. Carbon tetrachloride (CCl₄) has been widely used for decades to induce liver injury and fibrosis in mice [42]. A previous report has suggested that multiple administrations of CCl₄ with a high-fat diet induce oxidative stress that triggers inflammation and apoptosis, leading to the development of fibrosis in mice [43]. Also, combined chronic treatment with CCl₄ and choline-deficient L-amino-acid-defined-diet for up to 9 months can induce NASH with fibrosis, and HCC [44]. However, these reports have lacked blinded quantitative assessment of the three features of the NAFLD activity score, which is used routinely in human studies (steatosis, lobular inflammation, and hepatocyte ballooning); moreover, the fibrosis stage was not quantified or fully characterized. Importantly, the effects of chronic treatment with CCl₄ combined with a WD have not been assessed as a potential model for NASH.



Several reports demonstrated that signaling pathways in HO-1 expression involved in the mitogen-activated protein kinase (MAPK), phosphatidylinositol-3-kinase (PI3-K)/Akt pathways, nuclear factor- E2-related factor 2 (Nrf2), and antioxidant responsive element (ARE) in promoter of HO-1 gene. The transcription factor Nrf2, which interacts with AREs, has recently emerged as a major player in the transcriptional activation of HO-1. The signaling molecules involved in HO-1 gene induction are activated in an inducer-specific manner and cell-specific manner. For example, tyrosine kinase inhibitors, but not inhibitors of the extracellular signal-regulated kinase (ERK) and p38 MAPK pathways, attenuated induction of the HO-1 by hemin, sodium arsenite, and cadmium chloride in human HeLa cells. Conversely, statins might activate protein kinase G to elicit activations of ERK and p38 MAPK pathways and finally induce HO-1 gene expression. However, nitric oxide stimulates HO-1 gene expression via the activation of the Nrf2/ARE complex, independent of the MAPK or PI3-K/Akt pathways. Up to now, previous studies have not explored the signal transduction involved in LXA4-induced HO-1 expressions. Along this line, it is possible to speculate that p38 MAPK, ERK and Nrf2/ARE signal transduction may be involved in the LXA4-induced HO-1 expression. Aging can be thought of as the collision between destructive processes that act on cells and organs over the lifetime and the responses that promote homeostasis, vitality and longevity. However, the precise mechanisms that determine the rates of aging in organisms are not known. One major contributing cause is oxidative stress, as consequence of an imbalance in the prooxidant and antioxidant systems [45]. Oxidative stress may cause reversible and/or irreversible modifications on sensitive proteins leading to structural, functional and stability modulations. Protein modifications such as carbonylation, nitration and protein–protein cross-linking are generally associated with loss of function and may lead to either the unfolding and degradation of the damaged proteins, or aggregation leading to accumulation as cytoplasmic inclusions, as observed in age-related neurodegenerative disorders. Oxidized proteins are highly sensitive to proteolytic degradation by the proteasome. Recent studies have shown that prolonged oxidized proteins are more resistant to degradation by proteosome. Moreover, post-translational modification can sometimes change the structure of proteins, which could then prevent the formation of the appropriate antigen–antibody complex.



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

Our laboratory is actively employing proteomics to study a wide variety of age related, oxidative stress-associated neurodegenerative diseases and models thereof [46-83]. Consistent with this, molecular chaperones are known to disrupt aggregates but also to promote active aggregation when the concentration of the aggregating protein is high. Although protein aggregation is hazardous under certain circumstances, the creation of apparently less-toxic large aggregates is protective. This hypothesis is the basis of the therapeutic potential of heat shock proteins (HSPs), which prevent protein misfolding and aggregation. The possibility of clinical change in the long term these pathophysiological conditions associated with increased cellular oxidative stress through a nutritional approach targeted, is a nutritional and therapeutic target of emerging clinical interest, the therapeutic advantages that would be a field of clinical application as ever extended since, as previously mentioned, the field of human pathologies in which such alterations are present is very broad and includes in addition to the major diseases of neurological interest, also systemic diseases such as diabetes and cancer. The heat shock protein system, together with the Nrf-2 related antioxidant genes, the GSH system, the Thioredoxin and Sirtuins systems represent an active and integrated cytoprotective network operating during stressful condition to allow cells and organs to survive to oxidative genotoxic and proteotoxic stresses that would otherwise lead to apoptosis and cell death, which are controlled by redox regulated genes which has been characterized in our laboratory as Vitagenes [45,47]. Consistent with this notion, modulation of endogenous cellular defense mechanisms via the vitagene system represents an innovative approach to therapeutic intervention in diseases causing chronic tissue damage, such as in metabolic syndrome, diabetes, cancer and neurodegeneration. The possibility of high-throughout screening using proteomic techniques, particularly redox proteomics, provide more comprehensive overview of the interaction of proteins, as well as the interplay among processes involved in neuroprotection. Dietary antioxidants, have recently been demonstrated to be neuroprotective through the activation of hormetic pathways, including vitagenes. The hormetic dose-response, challenges long-standing beliefs about the nature of the dose-response in a lowdose zone, having the potential to affect significantly the design of pre-clinical studies and clinical trials as well as strategies for optimal patient dosing in the treatment of numerous diseases. Given the broad cytoprotective properties of



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

the heat shock response there is now strong interest in discovering and developing pharmacological agents capable of inducing stress responses. Our research group has already shown the possible signaling mechanisms by which hormetic compounds by activating vitagenes can enhance defensive systems involved in bioenergetic and stress resistance homeostasis with consequent impact on systemic metabolic disorders and aging processes.

Here, we will use rat hepatoma FaO cells exposed to a mixture of oleate/palmitate that represent a reliable in vitro model for hepatic steatosis widely employed in previous studies of our group [84,85]. As FAs seem to play also direct effects on oxidative stress of vascular endothelium [86], we used also human endothelial HECV cells exposed to FAs that could be compared to in vivo atherosclerosis, as endothelial damage is typically observed in metabolic syndrome [87,88]. We have established also a murine NASH model which leads to rapid and reproducible progression of steatohepatitis, with extensive fibrosis and hepatocellular carcinoma, and closely replicates the transcriptomic hallmarks of human NASH. Using a WD and CCl₄ we have generated all the key metabolic and histologic features of human NASH within 12 weeks, with consistent development of HCC by 24 weeks.

Project Development

1. Study of the oxidative damage, redox status, mitochondrial complex activity, inflammatory response in liver of C57BL6 mice receiving for 12 weeks a western diet (WD) and CCl₄: WD, which is high-fat, high-fructose and high-cholesterol, combined with low dose weekly intraperitoneal carbon tetrachloride (CCl₄), which served as an accelerator, in absence and presence of a daily oral dose of 40 mg/Kg GSH.
2. Study of the oxidative damage, redox status, mitochondrial complex activity, inflammatory response in FaO cells (European Collection of Authenticated Cell Cultures, Sigma-Aldrich) a rat hepatoma cell line maintaining hepatocyte-specific markers liver treated with FA in absence and presence of 1 and 10 mM GSH.

Methods

Cell culture and treatments

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Direzione e Uffici Amministrativi
Via Santa Sofia 64, 95125 Catania
P. IVA 02772010878



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

FaO cells (European Collection of Authenticated Cell Cultures, Sigma-Aldrich) are a rat hepatoma cell line maintaining hepatocyte-specific markers [45]. Cells will be grown in a humidified atmosphere with 5% CO₂ at 37 °C in Coon's modified Ham's F12 medium supplemented with l-Glutamine and 10% foetal calf serum (FCS). HECV cells (Cell Bank and Culture-GMP-IST-Genoa, Italy) are a human endothelial cell line isolated from umbilical vein; they will be grown at 37 °C in Dulbecco's modified Eagle's medium High Glucose (D-MEM) supplemented with l-Glutamine and 10% FCS. For treatments, cells will be grown until 80% confluence, then incubated overnight in serum-free medium with 0.25% bovine serum albumin (BSA). To mimic in vitro the effect of a high-fat diet, cells will be treated for 3 h with a mixture of oleate/palmitate at a final concentration of 0.75 mM (2:1 molar ratio). Thereafter, 'steatotic' cells (OP) will be incubated for 24 h in the absence or in the presence of two different GSH concentrations (1 and 10 mM GSH). Stock solution of GSH in PBS will be diluted with the culture medium to the working concentration.

Animal treatment

Male C57BL/6J mice will be purchased from Jackson Laboratory (Bar Harbor). Five mice per cage will be housed in a 12h light – 12 h dark cycle. All procedures will be performed according to protocols approved by the Animal Care and Use Committee of Icahn School of Medicine at Mount Sinai (IACUC-2015-0112).

Dietary and CCl₄ treatment

Mice (9 weeks old) will be fed a Western Diet (WD) containing 21.1% fat, 41% Sucrose, and 1.25% Cholesterol by weight (Teklad diets, TD. 120528) and a high sugar solution (23.1g/L d-fructose (Sigma-Aldrich, G8270) and 18.9 g/L d-glucose (Sigma-Aldrich, F0127) and CCl₄ (Sigma-Aldrich, 289116-100ML) at the dose of 0.2 µl (0.32 µg)/g of body weight, which is much lower than the dose that is usually given for fibrosis induction with CCl₄ alone 10, injected intraperitoneally once/week, starting simultaneously with the diet administration. Mice will be euthanized at 12 weeks by exsanguination after ketamine and xylazine anesthesia. Liver and serum samples will be collected and processed for histological, serological and gene expression analysis.



Liver histology

Formalin-fixed, paraffin-embedded liver sections will be stained with hematoxylin and eosin (H&E) for assessment of liver histology, with Sirius Red (Sigma, 365548-5G)/Fast Green (Sigma, F258) for assessment of fibrosis, and with periodic acid-Schiff (PAS) for assessment of glycogen accumulation. NAFLD Activity Score (NAS) and fibrosis stage will be evaluated by an expert pathologist according to the NASH CRN scoring system¹³. The histological scoring was performed blinded, with no knowledge by the pathologist of the treatment(s) received.

Immunohistochemistry

Formalin-fixed, paraffin-embedded liver sections will be incubated with primary antibodies against α SMA (Abcam, ab5694), desmin (Abcam, ab15200), CK-19 (Abcam, ab15463), and Ki67 (Abcam, ab15580). Quantitative morphometry was performed using computerized Life Science morphometry system (BIOQUANT) on equal number of pictures per mouse (10 or 20 images) under constant magnification (100 x or 200 x magnification) as indicated in the respective experiment. Immunofluorescence analysis for MIC1-1C3 (Thermoscientific #MA5-16136) was performed on fresh frozen liver sections which will be fixed with acetone and incubated with MIC1-1C3 antibody and fluorescently-labeled secondary antibody. CD3 (Leica, PA0122), CD4 (Leica, PA0427), CD8 (Leica, PA0183), and CK8/18 (Dako, IR094) immunostainings will be performed on randomly selected livers from 12-week and/or 24-week mice. Four-micron thick sections will be stained using the Leica AutoStainer Universal Staining System.

Immunoblotting

Fresh frozen livers will be homogenized using TissueLyser (Qiagen) in RIPA buffer containing protease inhibitors (Thermoscientific Pierce complete protease inhibitors, 1 tablet / 10 ml RIPA buffer). Bradford protein quantification was performed (Biorad Protein assay) and 30 μ g protein analyzed by SDS-PAGE and immunoblotting with antibodies to Collagen 1 (Bioss, bs10423R), α -smooth muscle actin (Abcam, ab5694) and GAPDH (EMD Millipore, CB1001).



Serum analysis

Serum ALT, AST, total cholesterol and triglyceride levels will be measured using VITROS 5,1 FS (Ortho Clinical Diagnostics). Non-fasting plasma insulin was measured with the Ultrasensitive Mouse Insulin ELISA kit (Crystal Chem, 90080) according to the manufacturer's instructions. Non-fasting blood glucose was assayed with the One Touch Ultra (Life Scan). In animals receiving CCl₄, blood was analyzed 7 days after the most recent administration. HOMA IR and QUICKI will be calculated.

Quantitative Polymerase Chain Reaction

RNA was extracted from liver tissues and purified (RNeasy Kit, Qiagen), and 1 µg of total RNA was reverse-transcribed into complementary DNA using RNA to cDNA EcoDry™ (Clontech, 639548). Expression levels will be determined by quantitative polymerase chain reaction (PCR) (iQ™ SYBR Green Supermix, Bio-Rad Laboratories, 1708884) on the LightCycler 480 Real-Time PCR System (Roche). The relative expression of target genes was normalized by *β-actin* expression as an internal control. *β-actin* was measured by using the 5'-GCTGTATTCCCCTCCATCGTG-3', forward and 5'-CACGGTTGGCCTTAGGGTTCAG-3', reverse primers. *Tgf-β* was measured by using the 5'-TGACGTCACCTGGAGTTGTACGG-3', forward and 5'-GGTTCATGTCATGGATGGTGC-3', reverse primers. *β-Pdgfr* was measured by using the 5'-ACTACATCTCCAAAGGCAGCACCT-3', forward and 5'-TGTAGAACTGGTCGTTTCATGGGCA-3', reverse primers. *Collagen 1 α 1* was measured by using the 5'-GTCCCTGAAGTCAGCTGCATA-3', forward and 5'-TGGGACAGTCCAGTTCTTCAT-3', reverse primers. *Timp-1* was measured by using the 5'-CAGTAAGGCCTGTAGCTGTGC-3', forward and 5'-CTCGTTGATTTCTGGGGAAC-3', reverse primers.

Transcriptome profiling



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

Global transcriptome profiling of the mouse liver and HCC tumor tissues was performed by RNA-Seq. Briefly, sequencing library was prepared using 200 ng total RNA by TruSeq library prep kit (Illumina) following manufacturer's protocol, and resulting data will be preprocessed by our custom preprocessing pipeline. Briefly, raw sequencing reads will be aligned to mouse reference genome (mm10) by STAR 2-pass algorithm¹⁶, and gene expression levels will be calculated as count per million (CPM) normalized by trimmed mean of M-values (TMM) method. The dataset is available at NCBI Gene Expression Omnibus database (www.ncbi.nlm.nih.gov/geo) accession number GSE99010.

Mitochondrial enzyme Complex activity measurement

For the measurement of mitochondrial enzymatic activities, tissue will be homogenized in 0.8 ml of 0.9% NaCl and sonicated for 10 sec at 0-2°C in an ultrasonic disintegrator (power 150 W). NADH-CoQ1 reductase (complex I, EC 1.6.99.3) and succinate-cytochrome c reductase (complex II-III, EC 1.8.3.1) activities will be determined according to Schapira et al., 1990. Cytochrome c oxidase (complex IV, EC 1.9.3.1) activity will be determined according to the method of Warton and Tzagoloff (1967). ATP synthase (EC 3.6.1.34) will be measured according to Buckle et al., 1986.

Western blot analysis of cellular stress response proteins, protein carbonyls and HNE

Cytosolic extracts from cell pellets from differentially exposed groups will be prepared as previously described with slight modifications. Cell pellets will be centrifuged at 10,000 g for 10 min and the supernatant used for HO-1, HO-2, Hsp72, Hsp60, TRX1, TRX, Sirt-1, Sirt-2, UCP1, carbonyls and HNE levels determination, after dosage of proteins as described below. Aliquots (30 µg) of protein extract will be separated by SDS-PAGE, transferred to nitrocellulose membranes and then probed with antibodies. Appropriate secondary antibodies will be used and the immunoreactivity visualized using ECL (Amersham Biosciences). Immunodetection of HO-1, HO-2 and Hsp72 will be performed by using, respectively, a polyclonal rabbit anti-HO-1 (SPA-895) and anti-HO-2 (OSA-200) antibodies (Stressgen, 1:2000 dilution in PBS, pH 7.5) and a monoclonal mouse anti-Hsp70 antibody (SPA-810, Stressgen). When probed for Hsp60 and TRXr proteins,



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

polyclonal goat anti-HSP60 antibody (sc-1052, Santa Cruz; 1:1000 dilution in PBS, pH 7.5) and polyclonal rabbit anti-TRXr-1 antibody (07-613, Upstate) will be used, respectively. For immunodetection of HNE, membranes will be incubated for 2 h at room temperature with anti-HNE (anti-4-hydroxy-2-Nonenal Michael adducts (393205, Calbiochem, San Diego, CA). Carbonyls groups will be estimated with a rabbit anti-Dinitrophenyl (DNP) antibody (V0401, DAKO; 1:1000 dilution in PBS pH, 7.5). All blots will be then visualized using a horseradish peroxidase-conjugated goat anti-rabbit or anti mouse IgG. A goat polyclonal antibody specific for β -actin will be used as a loading control (sc-1615 product of Santa Cruz; 1:1000 dilution in PBS pH, 7.5). For detection, the membranes will be incubated with a horseradish peroxidase-conjugated sheep anti-mouse immunoglobulin G (IgG), followed by ECL chemiluminescence (Amersham). The amount of inducible HO-1, Hsp72, Hsp60, Trx1, Trx, carbonyls and HNE will be quantified by scanning Western blot imaged films with a laser densitometer (LKB -Ultrosan, XL model). Multiple exposure of each blot will be used to ensure linearity of the film response.

Western blot analysis for GFAP, Bax, Bcl-2, NF- κ B, iNOS

Cytosolic and nuclear extracts from cell pellets will be extracted from differentially exposed groups after suspension of cell pellet in extraction Buffer A containing 0.2mM PMSF, 0.15mM pepstatin A, 20mM leupeptin, 1mM sodium orthovanadate, homogenized at the highest setting for 2min, and centrifuged at 1000 \times g for 10min at 4 C. Supernatants represented the cytosolic fraction. The pellets, containing enriched nuclei, will be resuspended in Buffer B containing 1% Triton X-100, 150mM NaCl, 10mM Tris-HCl pH 7.4, 1mM EGTA, 1mM EDTA, 0.2mM PMSF, 20mm leupeptin, 0.2mM sodium orthovanadate. After centrifugation 30min at 15,000 \times g at 4C, the supernatants containing the nuclear protein were stored at -80 C for further analysis. NF- κ B p65 translocation was quantified in nuclear fraction. The filters will be blocked with 1 \times PBS, 5% (w/v) non fat dried milk (PM) for 40 min at room temperature and subsequently probed with specific Abs anti-Bax (1:500; Santa Cruz Biotechnology), anti-Bcl-2 (1:500; Santa Cruz Biotechnology), anti-NF- κ B p65 (1:1000; Santa Cruz Biotechnology), anti-iNOS (1:200; BD transduction) non fat dried milk, 0.1% Tween-20 (PMT) at 4 °C overnight. Membranes will be incubated with peroxidase-conjugated



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

bovine anti-mouse IgG secondary antibody or peroxidase-conjugated goat anti-rabbit IgG (1:2000, Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) for 1h at room temperature. To ascertain that blots will be loaded with equal amounts of tissue lysates, they will be also incubated in the presence of the antibody against β -actin (1:10,000; Santa Cruz Biotechnology). The relative expression of the protein bands of Bax (~23kDa), Bcl-2 (26kDa), GFAP (50kDa), NF- κ B p65 and iNOS will be quantified by densitometric scanning of the X-ray films with GS-700 Imaging Densitometer (GS-700, Bio-Rad Laboratories, Milan, Italy) and a computer program (Molecular Analyst, IBM).

Glutathione (GSH) and glutathione disulfide (GSSG) assay

GSH and GSSG will be measured by the NADPH-dependent GSSG reductase method as previously reported (30). Cell homogenates will be homogenized on ice for 10 s in 100 mM potassium phosphate, pH 7.5, with 12 mM disodium EDTA. For total glutathione, an aliquots (0.1 ml) of homogenates will be immediately added to 0.1 ml of a cold solution containing 10 mM DTNB and 5 mM EDTA in 100 mM potassium phosphate, pH 7.5. The samples will be then mixed by tilting and centrifuged at 12,000 g for 2 min at 4°C. An aliquot (50 μ l) of the supernatant will be added to a cuvette containing 0.5 U of GSSG reductase in 100 mM potassium phosphate and 5 mM EDTA, pH 7.5 (buffer 1). After 1 min of equilibration, the reaction will be initiated with 220 nmol of NADPH in buffer 1 for a final reaction volume of 1 ml. The formation of a GSH-DTNB conjugate will be then measured at 412 nm. The reference cuvette containing equal concentrations of DTNB, NADPH and enzyme, but not sample will be used. For assay of GSSG, aliquots (0.5 ml) of homogenate will be immediately added to 0.5 ml of a solution containing 10 mM N-ethylmaleimide (NEM) and 5 mM EDTA in 100 mM potassium phosphate, pH 7.5. The sample will be mixed by tilting and centrifuged at 12,000 g for 2 min at 4°C. An aliquot (500 μ l) of the supernatant will be passed at one drop/s through a SEP-PAK C18 Column (Waters, Framingham, MA), previously washed with methanol followed by water. The column will be then washed with 1 ml of buffer 1. Aliquots (865 μ l) of the combined eluates will be added to a cuvette with 250 nmol of DTNB and 0.5 U of GSSG reductase. The assay then will proceed as in the measurement of total GSH. GSH and GSSG standards in the ranges between 0 to 10 nmol and 0.010 to 10 nmol, respectively, added



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

to control samples will be used to obtain the relative standard curves, and the results will be expressed in nmol of GSH or GSSG, respectively, per mg protein.

ELISA measurement of TNF- α , IL-1 β , IL-10 and Lipoxin A4

For the measurement of cytokines levels, cytosolic extracts from cell pellets of NPCs, neurons and glial cells from differentially exposed groups, will be homogenized in 1 ml PBS containing protease inhibitors (Complete protease inhibitor tablets, Roche). TNF- α , IL-1 β , IL-10 and Lipoxin A4 levels will be assayed using DuoSet ELISA Development System (R&D Systems). All assays will be carried out in duplicate using recommended buffers, diluents and substrates. Absorbency will be determined using a microplate reader at 450 nm (Thermo Scientific, Multiskan FC Microplate Photometer). The intra-assay coefficient of variations for both assays will be less than 10%. The concentration of the cytokines in the tissue will be mentioned as pg/mg protein.

References

1. Loomba R, Sanyal AJ (2013) The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10:686–690. doi:10.1038/nrgastro.2013.171
2. Huang YY, Gusdon AM, Qu S (2013) Nonalcoholic fatty liver disease: molecular pathways and therapeutic strategies. *Lipids Health Dis* 12:171. doi:10.1186/1476-511X-12-171
3. Anstee QM, Targher G, Day CP (2013) Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10:330–344. doi:10.1038/nrgastro.2013.41
4. Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH (2011) Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science* 332:1519–1523. doi:10.1126/science.1204265
5. Sahini NBJ (2014) Recent insights into the molecular pathophysiology of lipid droplet formation in hepatocytes. *Progr Lipid Res*. doi:10.1016/j.plipres.2014.02.002
6. Day CP, James OF (1998) Steatohepatitis: a tale of two “hits”? *Gastroenterology* 114:842–845



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

7. Rolo AP, Teodoro JS, Palmeira CM (2012) Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radic Biol Med* 52:59–69. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.10.003
8. Hoesel B, Schmid JA (2013) The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 12:86. doi:10.1186/1476-4598-12-86
9. Rigacci S, Stefani M. Nutraceutical Properties of Olive Oil Polyphenols. An Itinerary from Cultured Cells through Animal Models to Humans. *Int J Mol Sci* 2016;17. doi:10.3390/ijms17060843.
10. Mata P, Alvarez-Sala LA, Rubio MJ, Nuno J, De Oya M (1992) Effects of long-term monounsaturated- vs polyunsaturatedenriched diets on lipoproteins in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 55:846–850
11. Mensink RP, Katan MB (1989) Effect of a diet enriched with monounsaturated or polyunsaturated fatty acids on levels of low-density and high-density lipoprotein cholesterol in healthy women and men. *N Engl J Med* 321:436–441. doi:10.1056/NEJM198908173210705
12. Mensink RP, Katan MB (1992) Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb* 12:911–919. doi:10.1161/01.ATV.12.8.911
13. Reaven P, Parthasarathy S, Grasse BJ, Miller E, Steinberg D, Witztum JL (1993) Effects of oleate-rich and linoleate-rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subjects. *J Clin Invest* 91:668–676. doi:10.1172/JCI116247
14. Ryan M, McInerney D, Owens D, Collins P, Johnson a, Tomkin GH (2009) Diabetes and the Mediterranean diet: a beneficial effect of oleic acid on insulin sensitivity, adipocyte glucose transport and endothelium-dependent vasoreactivity. *QJM* 93:85–91. doi:10.1093/qjmed/93.2.85
15. Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Würtele G, Spiegelhalder B et al (2000) Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet Oncol* 1:107–112
16. Visioli F, Poli A, Gall C (2002) Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med Res Rev* 22:65–75
17. Zern TL, Fernandez ML (2005) cardioprotective effects of dietary polyphenols. *J Nutr* 2291–4



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

18. Itoh A, Isoda K, Kondoh M, Kawase M, Watari A, Kobayashi M et al (2010) Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on CCl₄-induced liver injury. *Biol Pharm Bull* 33:983–987
19. Poudyal H, Campbell F, Brown L (2010) Olive leaf extract attenuates cardiac, hepatic, and metabolic changes in high carbohydrate-, high fat-fed rats. *J Nutr* 140:946–953. doi:10.3945/jn.109.117812
20. Gutiérrez-Juárez R, Pocai A, Mulas C, Ono H, Bhanot S, Monia BP et al (2006) Critical role of stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1) in the onset of diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest* 116:1686–1695. doi:10.1172/JCI26991
21. Viswakarma N, Jia Y, Bai L, Vluggens A, Borensztajn J, Xu J et al (2010) Coactivators in PPAR-regulated gene expression. *PPAR Res*. doi:10.1155/2010/250126
22. Martin G, Schoonjans K, Lefebvre AM, Staels B, Auwerx J (1997) Coordinate regulation of the expression of the fatty acid transport protein and acyl-CoA synthetase genes by PPARalpha and PPARgamma activators. *J Biol Chem* 272:28210–28217
23. Yu S, Matsusue K, Kashireddy P, Cao W-Q, Yeldandi V, Yeldandi AV et al (2003) Adipocyte-specific gene expression and adipogenic steatosis in the mouse liver due to peroxisome proliferator-activated receptor gamma1 (PPARGgamma1) overexpression. *J Biol Chem* 278:498–505. doi:10.1074/jbc.M210062200
24. Shah V, Haddad FG, Garcia-Cardena G, Frangos JA, Mennone A, Groszmann RJ et al (1997) Liver sinusoidal endothelial cells are responsible for nitric oxide modulation of resistance in the hepatic sinusoids. *J Clin Invest* 100:2923–2930. doi:10.1172/JCI119842
25. Braet F, Wisse E (2002) Structural and functional aspects of liver sinusoidal endothelial cell fenestrae: a review. *Comp Hepatol* 1:1
26. Connolly MK, Bedrosian AS, Malhotra A, Henning JR, Ibrahim J, Vera V et al (2010) In hepatic fibrosis, liver sinusoidal endothelial cells acquire enhanced immunogenicity. *J Immunol* 185:2200–2208. doi:10.4049/jimmunol.1000332
27. Gay AN, Mushin OP, Lazar DA, Naik-Mathuria BJ, Yu L, Gobin A, Smith CW OO (2011) Wound healing characteristics of ICAM-1 null mice devoid of all isoforms of ICAM-1. *J Surg Res* 1–7. doi:10.1016/j.jss.2011.06.053



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

28. Szmitko PE, Wang C-H, Weisel RD, Jeffries GA, Anderson TJ, Verma S (2003) Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation: part II. *Circulation* 108:2041–2048. doi:10.1161/01.CIR.0000089093.75585.98
29. Lalor PF, Shields P, Grant A, Adams DH (2002) Recruitment of lymphocytes to the human liver. *Immunol Cell Biol* 80:52–64. doi:10.1046/j.1440-1711.2002.01062.x
30. Roebuck KA, Finnegan A (1999) Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (CD54) gene expression. *J Leukoc Biol* 66:876–888
31. Kuhlencordt PJ, Rosel E, Gerszten RE, Morales-Ruiz M, Dombkowski D, Atkinson WJ et al (2004) Role of endothelial nitric oxide synthase in endothelial activation: insights from eNOS knockout endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 286:C1195–C1202. doi:10.1152/ajpcell.00546.2002
32. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L (2007) Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 87:315–424. doi:10.1152/physrev.00029.2006
33. Singh, S. et al. Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver vs Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-analysis of Paired-Biopsy Studies. *Clin Gastroenterol Hepatol* 13, 643-654 e649, doi:10.1016/j.cgh.2014.04.014 (2015).
34. Sayiner, M., Koenig, A., Henry, L. & Younossi, Z. M. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World. *Clin Liver Dis* 20, 205-214, doi:10.1016/j.cld.2015.10.001 (2016).
35. Younossi, Z. M. et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 64, 73-84, doi:10.1002/hep.28431 (2016).
36. Wong, R. J., Cheung, R. & Ahmed, A. Nonalcoholic steatohepatitis is the most rapidly growing indication for liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma in the U.S. *Hepatology* 59, 2188-2195, doi:10.1002/hep.26986 (2014).
37. Ibrahim, S. H., Hirsova, P., Malhi, H. & Gores, G. J. Animal Models of Nonalcoholic Steatohepatitis: Eat, Delete, and Inflammation. *Dig Dis Sci* 61, 1325-1336, doi:10.1007/s10620-015-3977-1 (2016).



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

38. Machado, M. V. et al. Mouse models of diet-induced nonalcoholic steatohepatitis reproduce the heterogeneity of the human disease. *PLoS One* 10, e0127991, doi:10.1371/journal.pone.0127991 (2015).
39. Itagaki, H., Shimizu, K., Morikawa, S., Ogawa, K. & Ezaki, T. Morphological and functional characterization of non-alcoholic fatty liver disease induced by a methionine-choline-deficient diet in C57BL/6 mice. *Int J Clin Exp Pathol* 6, 2683-2696 (2013).
40. Charlton, M. et al. Fast food diet mouse: novel small animal model of NASH with ballooning, progressive fibrosis, and high physiological fidelity to the human condition. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 301, G825-834, doi:10.1152/ajpgi.00145.2011 (2011).
41. Asgharpour, A. et al. A diet-induced animal model of non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular cancer. *J Hepatol* 65, 579-588, doi:10.1016/j.jhep.2016.05.005 (2016).
42. Scholten, D., Trebicka, J., Liedtke, C. & Weiskirchen, R. The carbon tetrachloride model in mice. *Laboratory animals* 49, 4-11, doi:10.1177/0023677215571192 (2015).
43. Kubota, N. et al. A high-fat diet and multiple administration of carbon tetrachloride induces liver injury and pathological features associated with non-alcoholic steatohepatitis in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 40, 422-430, doi:10.1111/1440-1681.12102 (2013).
44. De Minicis, S. et al. HCC development is associated to peripheral insulin resistance in a mouse model of NASH. *PLoS One* 9, e97136, doi:10.1371/journal.pone.0097136 (2014).
45. Calabrese V., Cornelius C., Cuzzocrea S., Iavicoli I., Rizzarelli E., Calabrese E.J. (2011) Hormesis, cellular stress response and vitagenes as critical determinants in aging and longevity. *Mol Aspects of Med.* 32: 279-304.
46. Di Paola R., Impellizzeri D., Trovato Salinaro A., Mazzone E., Bellia F., Cavallaro M., Cornelius C., Vecchio G., Calabrese V., Rizzarelli E., Cuzzocrea S. Administration of carnosine in the treatment of acute spinal cord injury. (2011). *Biochem Pharm* 82, 1478-1489.
47. Calabrese V., Cornelius C., Dinkova-Kostova A.T., Calabrese E.J., Mattson M.P. (2010) Cellular stress responses, the hormesis paradigm and vitagenes: novel targets for therapeutic intervention in neurodegenerative disorders. *Antioxid Redox Signal.* 13, 1763-1811.
48. Calabrese V., Mancuso C., Calvani M., Rizzarelli E., Butterfield D.A., Giuffrida Stella A.M.. (2007) Nitric Oxide in the CNS: Neuroprotection versus Neurotoxicity. *Nature Neuroscience* 8, 766-775.



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

49. Edrey YH, Oddo S, Cornelius C, Caccamo A, Calabrese V, Buffenstein R. (2014) Oxidative damage and amyloid- β metabolism in brain regions of the longest-lived rodents. *J Neurosci Res.* 92: 195-205.
50. Davinelli S, Calabrese V, Zella D, Scapagnini G. (2014) Epigenetic nutraceutical diets in Alzheimer's disease. *J Nutr Health Aging.* Dec;18(9):800-5. doi: 10.1007/s12603-014-0520-6. PubMed PMID: 25389957.
51. Scapagnini G, Davinelli S, Kaneko T, Koverech G, Koverech A, Calabrese EJ, Calabrese V. (2014) Dose response biology of resveratrol in obesity. *J Cell Commun Signal.* 8: 385-391.
52. Calabrese V, Scapagnini G, Davinelli S, Koverech G, Koverech A, De Pasquale C, Salinaro AT, Scuto M, Calabrese EJ, Genazzani AR. (2014) Sex hormonal regulation and hormesis in aging and longevity: role of vitagenes. *J Cell Commun Signal.* 8: 369-384.
53. Davinelli S, Scapagnini G, Denaro F, Calabrese V, Benedetti F, Krishnan S, Curreli S, Bryant J, Zella D. (2014) Altered expression pattern of Nrf2/HO-1 axis during accelerated-senescence in HIV-1 transgenic rat. *Biogerontology.* 15: 449-461.
54. Cornelius C, Koverech G, Crupi R, Di Paola R, Koverech A, Lodato F, Scuto M, Salinaro AT, Cuzzocrea S, Calabrese EJ, Calabrese V. (2014) Osteoporosis and Alzheimer pathology: Role of cellular stress response and hormetic redox signaling in aging and bone remodeling. *Front Pharmacol.* 5:120. doi:10.3389/fphar.2014.00120. eCollection 2014.
55. Trovato Salinaro A, Cornelius C, Koverech G, Koverech A, Scuto M, Lodato F, Fronte V, Muccilli V, Reibaldi M, Longo A, Uva MG, Calabrese V. (2014) Cellular stress response, redox status, and vitagenes in glaucoma: a systemic oxidant disorder linked to Alzheimer's disease. *Front Pharmacol.* 5:129. doi:10.3389/fphar.2014.00129. eCollection 2014.
56. Currò M, Trovato-Salinaro A, Gugliandolo A, Koverech G, Lodato F, Caccamo D, Calabrese V, Ientile R. (2015) Resveratrol protects against homocysteine-induced cell damage via cell stress response in neuroblastoma cells. *J Neurosci Res.* 93: 149-156.
57. Davinelli S, Scapagnini G, Denaro F, Calabrese V, Benedetti F, Krishnan S, Curreli S, Bryant J, Zella D. (2014) Altered expression pattern of Nrf2/HO-1 axis during accelerated-senescence in HIV-1 transgenic rat. *Biogerontology.* 15: 449-461.
58. Cornelius C, Koverech G, Crupi R, Di Paola R, Koverech A, Lodato F, Scuto M, Salinaro AT, Cuzzocrea S, Calabrese EJ, Calabrese V. (2014) Osteoporosis and Alzheimer pathology: Role



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

- of cellular stress response and hormetic redox signaling in aging and bone remodeling. *Front Pharmacol.* 5:120. doi:10.3389/fphar.2014.00120. eCollection 2014.
59. Trovato Salinaro A, Cornelius C, Koverech G, Koverech A, Scuto M, Lodato F, Fronte V, Muccilli V, Reibaldi M, Longo A, Uva MG, Calabrese V. (2014) Cellular stress response, redox status, and vitagenes in glaucoma: a systemic oxidant disorder linked to Alzheimer's disease. *Front Pharmacol.* 5:129. doi:10.3389/fphar.2014.00129. eCollection 2014.
60. Calabrese V, Dattilo S, Petralia A, Parenti R, Pennisi M, Koverech G, Calabrese V, Graziano A, Monte I, Maiolino L, Ferreri T, Calabrese EJ. (2015) Analytical approaches to the diagnosis and treatment of aging and aging-related disease: redox status and proteomics. *Free Radic Res.* 49: 511-524.
61. Amadio M, Scapagnini G, Davinelli S, Calabrese V, Govoni S, Pascale A. (2015) Involvement of ELAV RNA-binding proteins in the post-transcriptional regulation of HO-1. *Front Cell Neurosci.* 8:459. doi: 10.3389/fncel.2014.00459.
62. Dattilo S, Mancuso C, Koverech G, Di Mauro P, Ontario ML, Petralia CC, Petralia A, Maiolino L, Serra A, Calabrese EJ, Calabrese V. (2015) Heat shock proteins and hormesis in the diagnosis and treatment of neurodegenerative diseases. *Immun Ageing.* 12:20. doi: 10.1186/s12979-015-0046-8. eCollection 2015.
63. Calabrese EJ, Dhawan G, Kapoor R, Iavicoli I, Calabrese V. (2015) What is hormesis and its relevance to healthy aging and longevity? *Biogerontology* 16:693-707.
64. Catino S, Paciello F, Miceli F, Rolesi R, Troiani D, Calabrese V, Santangelo R, Mancuso C. (2016) Ferulic Acid Regulates the Nrf2/Heme Oxygenase-1 System and Counteracts Trimethyltin-Induced Neuronal Damage in the Human Neuroblastoma Cell Line SH-SY5Y. *Front Pharmacol.* 8;6:305. doi: 10.3389/fphar.2015.00305.
65. Calabrese V., Davinelli S., Luca M., Zella D., Calabrese E.J., and Scapagnini G. (2015) Inflammaging, Oxidative Stress and Carnosine: Role of Hormetic Vitagenes. In: *Imidazole Dipeptides : Chemistry, Analysis, Function and Effects. Food and Nutritional Components in Focus.* January(8), pp. 238-256. EPUB eISBN: 978-1-78262-655-8. DOI:10.1039/9781782622611-00238.
66. Trovato A, Siracusa R, Di Paola R, Scuto M, Fronte V, Koverech G, Luca M, Serra A, Toscano MA, Petralia A, Cuzzocrea S, Calabrese V. (2016) Redox modulation of cellular stress



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

response and lipoxin A4 expression by *Coriolus versicolor* in rat brain: Relevance to Alzheimer's disease pathogenesis. *Neurotoxicology*. 53:350-358.

67. Calabrese EJ, Dhawan G, Kapoor R, Iavicoli I, Calabrese V. (2016) HORMESIS: A Fundamental Concept with Widespread Biological and Biomedical Applications. *Gerontology*. 62:530-535.
68. Pennisi M, Crupi R, Di Paola R, Ontario ML, Bella R, Calabrese EJ, Crea R, Cuzzocrea S, Calabrese V. (2016) Inflammasomes, hormesis, and antioxidants in neuroinflammation: Role of NRLP3 in Alzheimer disease. *J Neurosci Res*. 2016 Nov 8. doi: 10.1002/jnr.23986.
69. Calabrese V, Giordano J, Signorile A, Laura Ontario M, Castorina S, De Pasquale C, Eckert G, Calabrese EJ. (2016) Major pathogenic mechanisms in vascular dementia: Roles of cellular stress response and hormesis in neuroprotection. *J Neurosci Res*. 94:1588-1603.
70. Calabrese V, Giordano J, Ruggieri M, Berritta D, Trovato A, Ontario ML, Bianchini R, Calabrese EJ. (2016) Hormesis, cellular stress response, and redox homeostasis in autism spectrum disorders. *J Neurosci Res*. 2016 Dec;94(12):1488-1498. doi: 10.1002/jnr.23893.
71. Trovato A, Siracusa R, Di Paola R, Scuto M, Ontario ML, Bua O, Di Mauro P, Toscano MA, Petralia CC, Maiolino L, Serra A, Cuzzocrea S, Calabrese V. (2016) Redox modulation of cellular stress response and lipoxin A4 expression by *Herichium Erinaceus* in rat brain: relevance to Alzheimer's disease pathogenesis. *Immun Ageing*. 13:23. doi: 10.1186/s12979-016-0078-8. eCollection 2016.
72. Calabrese V., Crea R. (2016). Potential prevention and treatment of Neurodegenerative Diseases: Olive polyphenols and hydroxytyrosol. *Eur. J. Neurodegenerative Diseases* 5: 81-108.
73. Barros A.B., Bell V., Ferrão J., Calabrese V., Fernandes T.H. (2016). Mushroom Biomass: Some Clinical Implications of β -Glucans and Enzymes. *Current Res. Nutrition and Food Science* 4: 37-47.
74. Paterniti I, Campolo M, Siracusa R, Cordaro M, Di Paola R, Calabrese V, Navarra M, Cuzzocrea S, Esposito E. (2017) Liver X receptors activation, through TO901317 binding, reduces neuroinflammation in Parkinson's disease. *PLoS One*. 12(4):e0174470.
75. Calabrese V, Giordano J, Crupi R, Di Paola R, Ruggieri M, Bianchini R, Ontario ML, Cuzzocrea S, Calabrese EJ. (2017) Hormesis, cellular stress response and neuroinflammation in schizophrenia: Early onset versus late onset state. *J Neurosci Res*. 95:1182-1193.



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

76. Calabrese E.J., Calabrese V., Giordano J. (2017) The role of hormesis in the functional performance and protection of neural systems. *Brain Circulation* 3: 1-13.
77. Wang D., Calabrese E.J., Lian B., Lin Z., Calabrese V. (2017) Hormesis as a mechanistic approach to understanding herbal treatments in traditional Chinese medicine. *Pharmacol Ther.* Nov 8. pii: S0163-7258(17)30263-2. doi:10.1016/j.pharmthera.2017.10.013.
78. Miquel S, Champ C, Day J, Aarts E, Bahr BA, Bakker M, Bánáti D, Calabrese V, Cederholm T, Cryan J, Dye L, Farrimond JA, Korosi A, Layé S, Maudsley S, Milenkovic D, Mohajeri MH, Sijben J, Solomon A, Spencer JPE, Thuret S, Vanden Berghe W, Vauzour D, Vellas B, Wesnes K, Willatts P, Wittenberg R, Geurts L. (2017) Poor cognitive ageing: Vulnerabilities, mechanisms and the impact of nutritional interventions. *Ageing Res Rev.* 42:40-55.
79. Calabrese V, Santoro A, Monti D, Crupi R, Di Paola R, Latteri S, Cuzzocrea S, Zappia M, Giordano J, Calabrese EJ, Franceschi C. (2017) Aging and Parkinson's Disease: Inflammaging, neuroinflammation and biological remodeling as key factors in pathogenesis. *Free Radic Biol Med.* 115: 80-91.
80. Peters V, Schmitt CP, Weigand T, Klingbeil K, Thiel C, van den Berg A, Calabrese V, Nawroth P, Fleming T, Forsberg E, Wagner AH, Hecker M, Vistoli G. (2017) Allosteric inhibition of carnosinase (CN1) by inducing a conformational shift. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 32(1):1102-1110.
81. Trovato Salinaro A, Pennisi M, Di Paola R, Scuto M, Crupi R, Cambria MT, Ontario ML, Tomasello M, Uva M, Maiolino L, Calabrese EJ, Cuzzocrea S, Calabrese V. (2018) Neuroinflammation and neurohormesis in the pathogenesis of Alzheimer's disease and Alzheimer-linked pathologies: modulation by nutritional mushrooms. *Immun Ageing.* 2018 Feb 14;15:8. doi: 10.1186/s12979-017-0108-1.
82. Calabrese EJ, Iavicoli I, Calabrese V, Cory-Slechta DA, Giordano J. (2018) Elemental mercury neurotoxicity and clinical recovery of function: A review of findings, and implications for occupational health. *Environ Res.* 9;163:134-148. doi: 10.1016/j.envres.2018.01.021.
83. Ahmad Rather M, Justin Thenmozhi A, Manivasagam T, Dhivya Bharathi M, Essa MM, Guillemin GJ. (2018) Neuroprotective role of Asiatic acid in aluminium chloride induced rat model of Alzheimer's disease. *Front Biosci* 10:262-275.
84. Grasselli E, Voci A, Canesi L, Goglia F, Ravera S, Panfoli I et al (2011) Non-receptor-mediated actions are responsible for the lipid-lowering effects of iodothyronines in FaO rat hepatoma cells. *J Endocrinol* 210:59–69. doi:10.1530/JOE-11-0074
85. Grasselli E, Cortese K, Fabbri R, Smerilli A, Vergani L, Voci A, Gallo G, Canesi L (2014) Thyromimetic actions of tetrabromobisphenol A (TBBPA) in steatotic FaO rat hepatoma cells. *Chemosphere* 112:511–518



Tel. 095/4781151 – email: calabres@unict.it

86. Zhou H, Liu X, Liu L, Yang Z, Zhang S, Tang M, et al. Oxidative stress and apoptosis of human brain microvascular endothelial cells induced by free fatty acids. *J Int Med Res* 37:1897–903
87. Szmitko PE, Wang C-H, Weisel RD, Jeffries GA, Anderson TJ, Verma S (2003) Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation: part II. *Circulation* 108:2041–2048. doi:10.1161/01.CIR.0000089093.75585.98
88. Lauris V, Crettaz M, Kahn CR (1986) Coordinate roles of insulin and glucose on the growth of hepatoma cells in culture. *Endocrinology* 118:2519–2524. doi:10.1210/endo-118-6-2519.

Catania 7.5.18

Prof. Vittorio Calabrese

Vittorio Calabrese



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche

PIANO ECONOMICO PREVISIONALE PER LA DETERMINAZIONE DEL CORRISPETTIVO

(Art.6 del Regolamento per le prestazioni conto terzi)

PROPOSTA DI CONTRATTO DI RICERCA PER:

Studio del ruolo protettivo di derivati del glutathione nella steatosi epatica non alcolica (NAFLD) in vitro e in vivo (protocollo sperimentale allegato al contratto di ricerca)

RESPONSABILE SCIENTIFICO:

Prof. Vittorio Calabrese

COMMITTENTE:

Gnosis S.p.A.

DURATA:

8 mesi a decorrere dalla data di sottoscrizione

SPESE PER RISORSE UMANE INTERNE:

- Compenso al Responsabile scientifico	€	17.010,00
- Compensi a Collaboratori	€	
- Spese per missioni	€	2.000,00

€ 19.010,00

SPESE PER RISORSE UMANE ESTERNE

- Compensi per contratti di collaborazione	€
- Spese per missioni	€

€

SPESE PER CONSUMI DI DIRETTA IMPUTAZIONE:

- Materiale di consumo	€	1.000,00
- Noleggio attrezzature	€	
- Spese diverse	€	

€ 1.000,00

QUOTE SPESE GENERALI DELLA STRUTTURA

- Utilizzo locali e attrezzature, pulizia, telefoni, acqua, luce, ecc. (5% del corrispettivo richiesto)	€	1.150,00
---	---	----------

QUOTA AMMORTAMENTO DELLE IMMOBILIZZAZIONI UTILIZZATE:

Si prevede l'acquisto di:

- n. del valore di €

Quota ammortamento (in base alla durata del contratto)

I anno =	%	€
II anno =	%	€



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche

ACCANTONAMENTO FONDO RICERCA DI ATENEO

(quota non inferiore all'1% del corrispettivo richiesto)

€ 230,00

ACCANTONAMENTO FONDO COMUNE DI ATENEO

(quota pari al 4% del corrispettivo richiesto)

€ 920,00

**ACCANTONAMENTO PER FONDO SUPPORTO, LEGALE,
CONTABILE, FISCALE, DELL'AMM.NE CENTRALE ALLE
ATTIVITA' CONTO TERZI**

(quota pari all'1% del corrispettivo richiesto)

€ 230,00

TOTALE COSTI PRESUNTI

€ 22.540,00

UTILE PER LA REALIZZAZIONE DEL SERVIZIO

(quota non inferiore al 2% del corrispettivo richiesto)

€ 460,00

TOTALE DEL CORRISPETTIVO AL NETTO DI IVA

€ 23.000,00

Fondo di riserva (4% degli utili)

€ 18,40

Vittorio Palumbo



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA

Biometec

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università di Catania



6.4.

Sezione di Microbiologia

Catania, 25 maggio 2018

Al Direttore del
Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università degli Studi
SEDE

Oggetto: richiesta stipula contratto di ricerca tra Alfasigma S.p.A. e Università degli Studi di Catania, Biometec.

Trasmetto in allegato la documentazione per la stipula del contratto di ricerca tra la società Alfasigma S.p.A. e l'Università degli Studi di Catania, Biometec avente per oggetto l'affidamento dell'incarico riguardante la ricerca dal titolo "Studi in vitro sull'attività e sull'eventuale sinergismo di fluconazolo, metronidazolo e clotrimazolo su Candida albicans e su Lattobacilli vaginali.

Prego la S.V. di voler sottoporre la suddetta documentazione alla prossima riunione utile del Consiglio del Biometec.

Cordialità

Prof.ssa Gianna Tempera

UNIVERSITA' DI CATANIA		
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE		
Titolo ...III...	Classe ...14...	Alleg. ...2...
N° 41327	DATA 28-05-2018	

CONTRATTO

TRA

Alfasigma S.p.A., con sede legale in Via Ragazzi del '99 n. 5, 40133 Bologna, capitale sociale Euro 10.000.000,00 interamente versato, Codice Fiscale, Partita IVA ed iscrizione al Registro delle Imprese di Milano n. 03432221202 (di seguito "Alfasigma")

E

l'Università degli Studi di Catania, attraverso il proprio Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, con sede in Piazza Università n. 2 – 95131 Catania, Codice Fiscale 02772010878, in persona dell'avv. Rosanna Branciforte, dirigente dell'Area dei Rapporti Istituzionali e con il Territorio, su delega del Direttore Generale, giusta D.D. del 4.09.2017, n. 3173 (di seguito indicata come "Università")

(l'Università e Alfasigma, ciascuno di seguito singolarmente definito anche "Parte" e, congiuntamente, "Parti")

PREMESSO CHE

- a) Alfasigma desidera avvalersi dei servizi dell'Università al fine di effettuare taluni studi in-vitro volti a valutare l'efficacia e l'eventuale sinergismo di fluconazolo, metronidazolo e clotrimazolo nel trattamento di *Candida albicans* e attività sui Lattobacilli vaginali (di seguito "Programma di Ricerca" o "Ricerca");
- b) L'Università, ritenendo di possedere le competenze necessarie, ha dichiarato ad Alfasigma la propria disponibilità ad effettuare il Programma di Ricerca, per il tramite del proprio Dipartimento di Scienze Biomediche (di seguito "Dipartimento");
- c) Le Parti intendono formalizzare con il presente contratto (di seguito "Contratto") gli accordi così raggiunti.

LE PARTI CONVENGONO E STIPULANO QUANTO SEGUE

ART. 1

PREMESSE E ALLEGATI

Le premesse e l'Allegato A costituiscono parte integrante e sostanziale del Contratto.

Art. 2

OGGETTO DEL CONTRATTO

Alfasigma affida all'Università, che accetta, l'incarico di eseguire le attività di cui al Programma di Ricerca, descritte in dettaglio nell'Allegato A.

Art. 3

DURATA DEL CONTRATTO E LUOGO DI ESECUZIONE

Per espressa pattuizione delle Parti, il Contratto deve intendersi efficace a far data dalla sua sottoscrizione e terminerà con il completamento della Ricerca. L'Università farà del suo meglio per completare la Ricerca entro e non oltre i 3 (tre) mesi dalla firma del Contratto. Il Contratto potrà essere rinnovato solo previo accordo scritto tra le Parti.

Art. 4

RESPONSABILE SCIENTIFICO

4.1 L'Università designa, quale responsabile scientifico del Programma di Ricerca, la Prof.ssa Gianna Tempera (di seguito "Responsabile Scientifico"). Alfasigma designa, quale referente del Programma di Ricerca, il Dr. Paolo Mattana (di seguito "Referente Alfasigma").

4.2 L'eventuale sostituzione del Responsabile Scientifico da parte dell'Università dovrà essere approvata preventivamente da Alfasigma per iscritto; la sostituzione del Referente Alfasigma potrà avvenire su designazione della stessa Alfasigma da comunicare all'Università per iscritto.

Art. 5

CORRISPETTIVO E MODALITÀ DI PAGAMENTO

5.1 Quale corrispettivo per l'esecuzione del Programma di Ricerca, Alfasigma si obbliga a corrispondere all'Università l'importo totale ed onnicomprensivo di **Euro 20.000,00 (ventimila/00) + I.V.A.**, che sarà erogato con le seguenti modalità:

- (i) Euro 8.000,00 (ottomila/00) + I.V.A. alla data di firma del Contratto (di seguito "Anticipo");
- (ii) Euro 12.000,00 (dodicimila/00) + I.V.A. al completamento della Ricerca; il pagamento sarà subordinato al ricevimento ed accettazione da parte di Alfasigma di relazione scritta finale riepilogativa di tutte le attività svolte dal Dipartimento nel corso del Programma di Ricerca e descrittiva dei risultati conseguiti (di seguito "Report").

5.2 I pagamenti saranno effettuati a 60 (sessanta) giorni dalla data delle relative fatture, su cui saranno indicate le coordinate bancarie in formato IBAN (27 caratteri alfanumerici). Le fatture dovranno essere inviate ad Alfasigma S.p.A., in Via Pontina Km 30,400 – 00071 Pomezia (Roma) all'attenzione della Contabilità Fornitori o, in alternativa, dovranno essere generate in portable document format (.pdf), ed inviate all'indirizzo di posta elettronica fatture.fornitori@alfasigma.com (ed in copia federica.rocce@alfasigma.com e ilaria.moraschini@alfasigma.com)

Art. 6

REPORT - COLLABORAZIONE

6.1 Il Dipartimento, per il tramite del Responsabile Scientifico, si impegna ad inviare il Report di cui al precedente Art. 5 al Referente Alfasigma. Il Report dovrà essere stampato su carta intestata del Dipartimento e firmato dal Responsabile Scientifico.

6.2 Per tutta la durata del Contratto, il Dipartimento si impegna altresì a prestare ad Alfasigma piena collaborazione per tutto quanto risultasse necessario per il buon esito della Ricerca e ad informare tempestivamente Alfasigma di qualsiasi fatto o avvenimento rilevante ai fini della Ricerca e/o che possa ritardarne o pregiudicarne lo svolgimento.

Art. 7

QUADERNI DI LABORATORIO e SOPRALLUOGHI

7.1 Il Dipartimento, per il tramite del Responsabile Scientifico, si impegna a registrare, in modo esaustivo e particolareggiato su quaderni di laboratorio tutte le fasi della Ricerca. I quaderni di laboratorio dovranno recare su ogni pagina la data e la firma dello sperimentatore e saranno messi a disposizione di Alfasisigma al termine della Ricerca, dopo essere stati firmati per presa visione dal Responsabile Scientifico.

7.2 Al fine di seguire l'andamento della Ricerca e verificarne il corretto svolgimento, il Referente della Ricerca e/o suoi delegati potranno effettuare sopralluoghi presso i laboratori del Dipartimento, previa comunicazione scritta ricevuta dal Dipartimento entro i 3 (tre) giorni lavorativi precedenti il sopralluogo. Alfasisigma garantisce che il proprio personale, che per esigenze connesse allo svolgimento della Ricerca debba recarsi presso i laboratori del Dipartimento, è assicurato per responsabilità civile verso terzi e contro gli infortuni.

7.3 Resta inteso che il personale di Alfasisigma che si rechi presso i laboratori del Dipartimento sarà tenuto ad uniformarsi ai regolamenti disciplinari e di sicurezza del Dipartimento e/o dell'Università.

Art. 8

REGIME DI PROPRIETÀ

8.1 Fermo restando il diritto morale di autore e di inventore tutelati dalle vigenti leggi, la proprietà di tutti i risultati del Programma di Ricerca, ancorché non brevettabili, e più in generale lo sfruttamento dei risultati, sono riservati in esclusiva e senza alcun onere ad Alfasisigma.

8.2 Eventuali risultati del Programma di Ricerca suscettibili di protezione brevettuale dovranno essere immediatamente comunicati ad Alfasisigma in qualsiasi forma.

8.3 Quanto previsto dai precedenti commi vale anche per i risultati non attinenti l'oggetto principale del Programma di Ricerca, o inizialmente non previsti, purché essi siano raggiunti in conseguenza della o in relazione alla Ricerca promossa e finanziata da Alfasisigma.

8.4 Nel caso in cui la Ricerca portasse al deposito di domanda di brevetto, Alfasisigma avrà la facoltà ma non l'obbligo, di chiedere a nome proprio o di altra società, la brevettazione dei risultati in Italia e/o all'estero, sopportandone le relative spese; in tal caso, gli inventori e l'Università e/o il Dipartimento saranno tenuti a fornire ad Alfasisigma tutta la documentazione tecnica/scientifica necessaria per l'ottenimento dei suddetti brevetti.

Art. 9

REGIME DI SEGRETO; PUBBLICAZIONE

9.1 L'Università, il Dipartimento e il Responsabile Scientifico sono rigorosamente tenuti ad osservare il segreto in relazione ad atti, fatti, informazioni, cognizioni, documenti e quant'altro sia stato trasmesso e/o comunicato da Alfasisigma, o di cui gli stessi fossero altrimenti venuti a conoscenza, nel corso del Programma di Ricerca.

9.2 Rimane peraltro inteso che i dipendenti e/o collaboratori dell'Università destinatari delle Informazioni Confidenziali perché coinvolti, a vario titolo, nel Programma di Ricerca, dovranno a loro volta mantenere il più stretto riserbo in ordine alle stesse ed adottare tutte le cautele necessarie affinché le stesse rimangano segrete e che l'Università sarà non di meno responsabile

dell'eventuale violazione del presente obbligo di segretezza da parte dei propri dipendenti e/o collaboratori.

9.3 Qualora l'Università e/o il Dipartimento e/o il Responsabile Scientifico intendano divulgare, anche solo parzialmente, i risultati della Ricerca dovranno concordare preventivamente con Alfasma sia l'oggetto che i mezzi di divulgazione. Conseguentemente ogni pubblicazione o divulgazione su stampa o in congressi è vietata, salva la preventiva autorizzazione scritta di Alfasma.

Art. 10

RECESSO; RISOLUZIONE

10.1 Alfasma potrà recedere in qualsiasi momento dal Contratto con preavviso scritto di trenta (30) giorni. In caso di recesso, Alfasma corrisponderà all'Università solo quanto dovuto per le attività di cui al Programma di Ricerca svolte da Dipartimento fino alla data di comunicazione del recesso, come appropriatamente documentate. Qualora l'importo dovuto per tali attività sia inferiore all'Anticipo, l'Università si impegna a restituire ad Alfasma la parte dell'Anticipo eccedente tale importo entro 30 (trenta) giorni dalla data di comunicazione del recesso.

10.2 Ciascuna delle Parti inoltre avrà facoltà di risolvere il Contratto in qualsiasi momento tramite notifica scritta se l'altra Parte non adempie agli obblighi previsti nel Contratto e non ha messo fine all'inadempienza entro 30 (trenta) giorni dalla notifica con cui si richiede l'adempimento.

Art. 11

INFORMATIVA AI SENSI DEL REGOLAMENTO UE 2016/679

11.1 I dati personali degli amministratori e dei dipendenti di ciascuna delle Parti acquisiti dall'altra Parte nell'ambito della sottoscrizione o esecuzione del Contratto (di seguito collettivamente le "Informazioni di Contatto") saranno trattati da tale Parte mediante strumenti manuali, informatici e telematici, all'interno dell'Unione Europea, esclusivamente per le finalità e con le modalità previste dalla normativa applicabile e, in ogni caso, in modo tale da garantirne la riservatezza.

11.2 Ciascuna delle Parti, per tutta la durata del Contratto, (i) dichiara e garantisce di aver ottenuto il consenso dei propri dipendenti e amministratori al trattamento delle rispettive Informazioni di Contatto necessarie ai fini dell'esecuzione del Contratto, e (ii) si impegna ad inoltrare all'altra Parte le richieste dei propri dipendenti e amministratori, in qualità di soggetti interessati al trattamento, volte ad accedere, aggiornare, rettificare o cancellare le rispettive Informazioni di Contatto trattate dall'altra Parte che, conseguentemente, avrà l'obbligo di soddisfare tali richieste ai sensi della normativa applicabile.

Art. 12

RESPONSABILITÀ e CODICE ETICO

12.1 L'Università indennizzerà e riterrà Alfasma indenne da qualsivoglia danno e/o responsabilità che alla stessa Alfasma possa derivare dalla violazione da parte del Dipartimento dei termini e delle condizioni del Contratto e/o da eventuali comportamenti dolosi o colposi di propri dipendenti e/o collaboratori e (incluso, ma non limitatamente, il Responsabile Scientifico) nel corso dello svolgimento del Programma di Ricerca.

12.2 L'Università, il Dipartimento e il Responsabile Scientifico dichiarano di aver preso visione e di essere a conoscenza del Codice Etico di Alfasigma, elaborato da Alfasigma nel rispetto della normativa vigente in materia di illecito amministrativo della persona giuridica dipendente da reato commesso da amministratori, dipendenti e/o collaboratori e disponibile sul sito internet www.alfasigma.com.

12.3 Alfasigma dichiara di aver preso visione del Codice Etico emanato dall'Università con D.R. n. 2637 del 6.8.2015 e del Codice di comportamento dell'Università emanato con D.R. n. 2352 del 5.6.2014, pubblicati sul sito web dell'Ateneo all'indirizzo <http://www.unictiecontent/atti-general>.

Art. 13 **COMUNICAZIONI**

Tutte le comunicazioni relative al Contratto, da inviarsi a mezzo raccomandata con ricevuta di ritorno, salvo quanto altrimenti stabilito dalle Parti, dovranno essere recapitate ai seguenti indirizzi:

Dipartimento di Scienze Biomediche
Università degli Studi di Catania
Piazza Università n. 2 – 95131 Catania
All'attenzione del Responsabile Scientifico, Prof.ssa Gianna Tempera

Alfasigma S.p.A.
Via Ragazzi del '99, n. 5
40133 Bologna
All'attenzione del Referente Alfasigma, Dr. Paolo Mattana

Art. 14 **CONTROVERSIE**

Per ogni controversia che dovesse sorgere in relazione alla esecuzione del Contratto sarà competente il foro di Bologna.

Art. 15 **REGISTRAZIONE E SPESE**

Il Contratto sarà registrato in caso d'uso e a tassa fissa ai sensi degli artt. 5 e 39 del DPR n. 131/86 a cura e spese della Parte richiedente la registrazione.

Art. 16 **DISPOSIZIONI FINALI**

16.1 Le Parti sono e rimangono contraenti autonomi e indipendenti. Il Contratto pertanto non configura tra le Parti alcun rapporto di agenzia, mandato, rappresentanza e simili e nessun impegno potrà essere validamente assunto da una Parte in nome e per conto dell'altra.

16.2 Ogni modifica al testo del Contratto dovrà essere specificamente approvata per iscritto dalle Parti.

16.3 L'Università e il Dipartimento si obbligano ad astenersi rigorosamente dall'abbinare e/o aggiungere al proprio nome, e/o comunque usare, il nome, i segni distintivi ed i marchi di Alfasigma.

16.4 Ciascuna Parte non potrà cedere o altrimenti trasferire a terzi, in tutto o in parte, il Contratto, né i diritti e le obbligazioni dallo stesso nascenti, senza il previo consenso scritto dell'altra Parte.

16.5 Le disposizioni contenute negli artt. 8, 9, 11, 12.1 e 14 sopravvivranno a qualunque estinzione del Contratto, per qualsiasi causa intervenuta.

Alfasigma S.p.A.

Nome:

Titolo:

Data:

Università degli Studi di Catania

Nome:

Titolo:

Data:

Per accettazione:

Dipartimento di Scienze Biomediche

Nome:

Titolo:

Data:

Prof.ssa Gianna Tempera

Responsabile Scientifico

Data:

ALLEGATO A

Studi in vitro sull'attività ed eventuale sinergismo di fluconazolo, cotrimazolo e metronidazolo su *Candida albicans* ed attività su Lattobacilli vaginali

Saranno utilizzati:

- 20 ceppi di *Candida albicans* sia di recente isolamento (da tamponi vaginali di donne con diagnosi di Candidosi vaginali) che appartenenti alla collezione della sezione di Microbiologia del Dipartimento Biometec. Le colonie di lieviti cresciute nei terreni specifici vengono inizialmente analizzate con il Germ-Tube Test (test di identificazione rapida per *C. albicans*). In particolare, una colonia di lievito viene diluita in 2 ml di siero bovino fetale e la provetta posta a 35°C per almeno 2 ore. Una goccia di questa sospensione è quindi osservata al microscopio (40 X): la formazione di tubuli di germinazione nelle cellule fungine è indicativa di *C. albicans*. Tutti i ceppi isolati, sia quelli negativi sia quelli positivi al test di germinazione, sono anche identificati per mezzo di una tecnica enzimatica (API Candida, Biomerieux).

- 10 ceppi di *Gardnerella vaginalis* di collezione della sezione di Microbiologia del Dipartimento Biometec

- 20 ceppi di Lattobacilli vaginali sia di recente isolamento (da tamponi vaginali di donne sane) che appartenenti alla collezione della sezione di Microbiologia del Dipartimento Biometec.

Dosaggio dell'attività in vitro di fluconazolo, clotrimazolo e metronidazolo, da soli e in associazione:

L'attività antimicrobica dei chemioterapici verrà valutata su ceppi d'isolamento e di collezione singolarmente ed in associazione.

Il metodo per la valutazione della sensibilità agli antimicrobici sarà quello delle microdiluizioni in brodo, utilizzando procedure standardizzate (Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI))

L'interazione delle molecole sarà studiata mediante test di checkerboard. (H. D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology, Washington)



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche

PIANO ECONOMICO PREVISIONALE PER LA DETERMINAZIONE DEL CORRISPETTIVO

(Art.6 del Regolamento per le prestazioni conto terzi)

Corrispettivo	€ 20.000,00
IVA 22%	€ 4.400,00
Totale	€ 24.400,00

PROPOSTA DI CONTRATTO DI RICERCA PER:

RESPONSABILE SCIENTIFICO: Prof.ssa Gianna Tempera

COMMITTENTE: Alfasigma spa

DURATA: 3 mesi

SPESE PER RISORSE UMANE INTERNE:

- Compenso al Responsabile scientifico	€ 3.500,00
- Compensi personale amministrativo	€ 500,00
- Spese per missioni	€ 6.000,00

SPESE PER RISORSE UMANE ESTERNE

- Compensi per contratti di collaborazione	€
--	---

SPESE PER CONSUMI DI DIRETTA IMPUTAZIONE:

- Materiale di consumo	€ 6.000,0
- Spese diverse (pubblicazioni)	€ 1.400,00

QUOTE SPESE GENERALI DELLA STRUTTURA

- Utilizzo locali e attrezzature, pulizia, telefoni, acqua, luce, ecc. (5% del corrispettivo richiesto)	€ 1.000,00
--	------------

QUOTA AMMORTAMENTO DELLE IMMOBILIZZAZIONI UTILIZZATE:

Si prevede l'acquisto di:

- n. ///	del valore di € //
Quota ammortamento (in base alla durata del contratto)	
I anno =	% €
II anno =	% €

ACCANTONAMENTO FONDO RICERCA DI ATENEO

(quota non inferiore all'1% del corrispettivo richiesto)	€ 200,00
--	----------

ACCANTONAMENTO FONDO COMUNE DI ATENEO

(quota pari al 4% del corrispettivo richiesto)	€ 800,00
--	----------

ACCANTONAMENTO PER FONDO SUPPORTO, LEGALE,



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche

**CONTABILE, FISCALE, DELL'AMM.NE CENTRALE ALLE
ATTIVITA' CONTO TERZI**

(quota pari all'1% del corrispettivo richiesto)

€ 200,00

TOTALE COSTI PRESUNTI

€ 19.600,00

UTILE PER LA REALIZZAZIONE DEL SERVIZIO

(quota non inferiore al 2% del corrispettivo richiesto)

€ 400,00

TOTALE DEL CORRISPETTIVO AL NETTO DI IVA

€ 20.000,00

Fondo di riserva (4% degli utili)

€ 16,00

Il responsabile scientifico

(Prof.ssa Gianna Tempera)



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA

DIPARTIMENTO di
SCIENZE BIOMEDICHE e
BIOTECNOLOGICHE

6.5

Sezione di Microbiologia

Catania, 4 giugno 2018

Al Direttore del Dipartimento di
Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università degli Studi
SEDE

UNIVERSITA' DI CATANIA	
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE	
Titolo ...111... Classe ...19... Alleg. ...3...	
N° ...76.093.....	DATA 06-06-2018.

Oggetto: stipula convenzione per prestazione di servizi con la Società Commerciale Sicula S.r.l.

Egregio Direttore,

con la presente Le chiedo di interessare il Dipartimento affinché si pronunci sulla stipula di una convenzione per prestazione di servizi con la Società Commerciale Sicula s.r.l., consistente nella ricognizione e certificazione su automezzi, bagni mobili ecologici e water a secco.

Cordialità

Prof. Aldo Stivala

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Contratto per prestazione di servizi

La Società Commerciale Sicula S.r.l., nel seguito indicata come Contraente, con sede in C.da Sant'Elena Bafurdo snc – 94013 Leonforte (EN), - Codice Fiscale/P.IVA 00451570865 in persona del suo rappresentante Amministratore Unico Armando Vinciprova

e

l'Università degli Studi Catania attraverso il proprio Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, con sede in Piazza Università n. 2 – 95131 Catania, codice fiscale 02772010878, rappresentata dal Dirigente Avv. Rosanna Branciforte, delegata alla sottoscrizione con D.D. n. 4524 dell'8.11.2017

CONVENGONO E STIPULANO QUANTO SEGUE:

Art. 1

Il Contraente affida all'Università nella persona del Prof. Aldo Stivala dichiaratosi a ciò disponibile, un incarico consistente nella ricognizione e certificazione su automezzi, bagni mobili ecologici e water a secco.

Art. 2

L'attività suddetta sarà svolta secondo le modalità indicate nella nota del Contraente, prot. 74477 del 4 giugno 2018, allegata al presente atto.

Art. 3

Il corrispettivo complessivo, per l'incarico di cui trattasi, viene stabilito in € 400,00 (euro quattrocento/00) più IVA per ogni controllo, per un totale di due controlli, e verrà corrisposto dal Contraente all'Università

Art. 4

Modalità di pagamento

Il Contraente verserà all'Università la somma di cui al precedente art. 3 dopo l'avvenuto sopralluogo da parte del personale incaricato del Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche e rilascio della relativa certificazione.

Le fatture relative al presente contratto dovranno essere intestate a: Commerciale Sicula S.r.l. – C.da Sant'Elena – Bafurdo – 94013 Leonforte (EN) – Partita IVA 00451570865.

Art.5

Le attività oggetto del presente contratto dovranno svolgersi entro un anno a decorrere dalla data di sottoscrizione del presente contratto. Qualsiasi modifica alla presente convenzione dovrà essere concordata tra le parti ed avverrà mediante atto aggiuntivo che entrerà in vigore tra le medesime solo dopo la relativa sottoscrizione da parte di entrambe.

Art. 6

Ciascuna delle parti potrà, a suo insindacabile giudizio, recedere dalla presente convenzione con un preavviso di almeno 30 giorni.

Tale preavviso dovrà essere notificato alla controparte con lettera raccomandata con ricevuta di ritorno.

In tal caso sono fatte salve le spese sostenute e gli impegni assunti alla data di comunicazione del recesso.

Articolo 7

Il rappresentante legale di Commerciale Sicula S.r.l. dichiara di aver preso visione del Codice etico emanato dall'Università con D.R. n. 2637 del 6.8.2015 e del Codice di comportamento dell'Università emanato con D.R. n. 2352 del 5.6.2014, pubblicati sul sito web dell'Ateneo nella sezione Amministrazione trasparente.

Art. 8

In caso di controversia nell'interpretazione o esecuzione del presente contratto, la questione verrà in prima istanza definita in via amichevole. Qualora non fosse possibile, il Foro competente sarà, in via esclusiva, quello di Catania.

Art. 9

Il presente Contratto sarà registrato solo in caso d'uso ai sensi degli artt. 5 comma secondo e 39 del DPR n. 131/86 e le relative spese saranno a carico della Parte che ne chiederà la registrazione. Le spese di bollo sono a carico di Commerciale Sicula S.r.l.

Catania lì

Università degli Studi di Catania

Commerciale Sicula S.r.l.
L'Amministratore Unico
Armando Vinciprova

PIANO FINANZIARIO PREVISIONALE

D.R. DEL 12/12/2005

COMMITTENTE		COMMERCIALE SICULA S.R.L.	
OGGETTO DELL'INCARICO		Monitoraggio bagni mobili ecologici e sui water a secco, nonché sugli autoveicoli utilizzati per la sanificazione dei bagni mobili mediante pulizia e disinfezione con acqua calda (100°C) e ad alta pressione (70 atm) e la raccolta e trasporto di reflui	
RESPONSABILE		PROF. ALDO STVALA	
CONSIGLIO DEL DIPARTIMENTO DEL			
CORRISPETTIVO		800,00	
IVA		176,00	
TOTALE		976,00	
Determinazione dei corrispettivi (D.R. del 12/12/2005)	Quota %	Importo al lordo di oneri connessi	NOTE
REMUNERAZIONE DEL PERSONALE *			Indicare i nominativi (e la quota % attribuita, oppure indicare "da definire al termine della prestazione")
Staff Amministrativo	0	-	Prof. A. Stivala (Resp. Scient)
personale docente	87	696,00	
personale a contratto	0		
		-	
SPESE PER CONSUMI DI DIRETTA IMPUTAZIONE *	0	-	Materiale di consumo, sostanze di laboratorio, animali, mangimi, smaltimento rifiuti speciali, spese postali, Partecipazione a convegni, seminarie corsi. Non sono ammessi acquisti di materiale inventariabile
SPESE GENERALI DELLA STRUTTURA	5	40,00	
QUOTA AMMORTAMENTO IMMOBILI UTILIZZATI	0	-	
UTILI RICAVALI, DESTINATI ALLA STRUTTURA	2	16,00	
ACCANTONAMENTO PER L'ATENEIO			
- Fondo ricerca (1% del corrispettivo)	1	8,00	
- Fondo comune (4% del corrispettivo)	4	32,00	
- Fondo supporto legale contabile fiscale (1% del corrispettivo)	1	8,00	
TOTALE	100	800,00	
- Fondo di riserva (4% degli utili)		0,64	

* quote variabili secondo esigenze del Responsabile del fondo (Totale da mantenere comunque: 87%); la quota per il personale (interno e/o esterno) non è vincolata al 50%, ma può anche arrivare all'87% se non si prevedono spese per consumi di diretta imputazione connesse all'oggetto dell'incarico.





COMMERCIALE SICULA S.R.L.



ISO 9001 : 2008
Certified Quality System

UNIVERSITA' DI CATANIA	
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE	
Titolo <u>III</u> Classe <u>19</u> Alleg. <u>1</u>	
N° <u>74477</u>	DATA <u>04-06-2018</u>

Spett.le

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA
DIPARTIMENTO DI
SCIENZE BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE
SEZIONE MICROBIOLOGIA
Via SANTA SOFIA, 64
95125 CATANIA (CT)

C.A. del Direttore Prof. Filippo Drago

e.p.c.

DOTT. STIVALA ALDO

SEDE

Leonforte, 31 Maggio 2018.

OGGETTO: conferimento incarico ricognizione e certificazione su ns.
automezzi, bagni mobili ecologici e water a secco.

Con la presente si intende rinnovare l'incarico a Codesto Dipartimento di Scienze Bio-mediche Sezione Microbiologia per il monitoraggio semestrale sui ns. bagni mobili ecologici e sui water a secco, nonché sugli autoveicoli utilizzati per la sanificazione dei bagni mobili mediante pulizia e disinfezione con acqua calda (100° C) e ad alta pressione (70 atm) e la raccolta e trasporto di reflui.

Elenco degli autoveicoli:

1. Autocarro IVECO Daily targa DG905DP, n° telaio: ZCFC65D1005830309;
2. Autocarro IVECO Daily targa DG906DP, n° telaio: ZCFC65D1005830310;
3. Autocarro IVECO Daily targa DG986DN, n° telaio: ZCFC50D0005736505;
4. Autocarro IVECO Daily targa DG987DN, n° telaio: ZCFC50D0005736506;
5. Autocarro IVECO Daily targa BZ850RJ, n° telaio: ZCFC5090005387387;
6. Autocarro IVECO Daily targa BZ852RJ, n° telaio: ZCFC50A0005384941;
7. Autocarro IVECO Daily targa CF109XK, n° telaio: ZCFC50A0005443957;
8. Autocarro IVECO Daily targa CF110XK, n° telaio: ZCFC65A0005443955;

Distinti saluti.

Commerciale Sicula S.r.l.
L'AMMINISTRATORE UNICO
(Firma)

Costruzione e vendita di: Bagni mobili ecologici a funzionamento chimico, Bagni mobili e docce mobili allacciabili, Bagni mobili e water a secco. - Localizzazione e pulizia-spurgo di bagni mobili ecologici. - Spurgo pozzi neri, fosse imhoff, fognature e caditoie. - Servizi di disinfezione, disinfezione e derattizzazione.
D. Lgs. 196/2003 - Tutela della Privacy: I vostri dati saranno inseriti nella nostra banca dati e utilizzati e/o comunicati a terzi per fini amministrativi, legali e per adempimenti di obblighi normativi.

CONAI



POLIECO





UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA

Biometec
Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università di Catania



Catania 4 Giugno 2018

Al Direttore di Dipartimento di
Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università degli Studi
SEDE

Oggetto: Contratto di ricerca tra International Health Management Associates, Inc. (IHMA) (ROCHE) e l'Università degli Studi di Catania, Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche – Sezione Microbiologia. Dal titolo "Surveillance study for meropenem/nacubactam and comparators against Gram-negative bacteria collected in 2018"

Allego, per gli adempimenti del caso, documentazione riguardante il contratto da stipulare con l'ente in oggetto,

Cordiali saluti,

Prof.ssa Stefania Stefani

Stefania Stefani

UNIVERSITA' DI CATANIA		
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE		
Titolo	III	Classe 19 Alleg. 5
N°	74923	DATA 05-06-2018

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Direzione e Uffici Amministrativi
Via Santa Sofia 97, 95125 Catania
P. IVA 02772010878
Tel. 095/4781351; 095/4781352

RESEARCH CONTRACT

The company, IHMA Europe Sàrl from here on called the contracting party, with headquarters and residence for tax purposes in Rte. de l'Ile-au-Bois 1A, 1870 Monthey/VS, Switzerland, VAT number CHE-144.720.940 in the person of its legal representative Dr. Ian Morrissey and the University of Catania - Department of BIOMETEC, with headquarters in Piazza Università 2, Fiscal code 02772010878 represented by Avv. Rosanna Branciforte authorized signatory with managerial decree of September 4 2017 n.3173

AGREE AND STIPULATE THE FOLLOWING:

1

Object of the contract

The contracting party assigns to the University of Catania, Department of BIOMETEC that accepts, contract for the provision of services: **"Surveillance study for meropenem/nacubactam and comparators against Gram-negative bacteria collected in 2018" (ROCHE)** to be carried out at the same department.

2

Scientific responsibility

The scientists in charge designated by the parties for the management of this contract are:

For the contracting party: Dr. Ian Morrissey
Rte. de l'Ile-au-Bois 1A,
1870 Monthey/VS,
Switzerland

For the Department: Prof. Stefania Stefani

3

Duration and where the research will be carried out

The activity of this contract must be carried out within the 31/12/2018.

The work relative to this contract will be carried out at the Department.

4



Compensation

Compensation for the execution of the activity that is the object of this contract is established in USD 2,500.00.

Method of payment

The contracting party will pay the Department the sum stipulated via bank transfer within 60 days from the receipt of invoice.

All the invoices relative to this contract should be addressed to: Mr. Martin Svejda, Rte. de l'Ile-au-Bois 1A, 1870 Monthey/VS, Switzerland.

6

Ownership of the results

The results of the elaborations carried out concerning the specific case on which they will be tested are the exclusive property of the contracting party.

The direct results of the research, instead, consisting in the definition and description of the procedure are the property of both the parties, the Department and the contracting party, who can use the results also in the field of their institutional work.

The parties, furthermore, pledge to not use the results for military ends.

7

Confidentiality

The Department pledges to not inform third parties of any information, technical data, documents and news that is confidential regarding the contracting party of which it is aware under this contract.

8

Withdrawal

The parties can withdraw from this contract in any moment, giving ninety (30) days notice; in this case the costs already sustained and the commitments undertaken will be considered valid up to the date of the communication of withdrawal.



Place of jurisdiction

In case of controversy over the interpretation or execution of this contract, the parties will first try to reach an amicable agreement. If this should not be possible, the place of jurisdiction shall be the competent courts by law.

Tax burden

This contract, drawn up in double, is subject to registration in case of use according to Art. 5, 6, 39, and 40 of the D.P.R. 131 of 26.4.1986. The cost of the eventual registration of this contract will be totally borne by the party that requires it.

Catania

University of Catania
Avv. Rosanna Branciforte

The contracting party
Dr. Ian Morrissey

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Ian Morrissey', with a stylized flourish underneath.

Scientist in charge
Prof. Stefania Stefani

24 MAY 2018



Participation Agreement

IHMA Europe Sàrl

Route de l'Île-au-Bois 1A

Tel. : +41 24 473 75 10 / Fax: +41 24 473 75 20 / Email: imorrissey@ihma.com

3261 Roche Surveillance 2018

As a contributing investigator in the 3261 Roche Surveillance 2018, we at
Department of Biomedical and Biotechnological Sciences – Microbiology – University of Catania

agree to collect, test and ship up to 100 viable, study isolates. Payment is \$25.00 per viable study isolate, not to exceed 100 isolates, and not to exceed \$2,500.00 in total. IHMA Europe Sàrl may use any data, specimens and materials submitted to them for any purpose public or private and that any such data, specimens, materials and resulting publications shall otherwise become the exclusive property of IHMA Europe Sàrl and F. Hoffmann-La Roche.

It is understood that we (the above named institution or facility) will receive payment for this study as stated. Full compensation for data and organisms, as specified in this agreement and study protocol, will be made at completion of the study, provided all study equipment is returned (if applicable). Termination of this agreement may be made with written notice by either party at any time without prejudice.

We, the forementioned institution or facility, acknowledge that Roche, the sponsor, is subject to applicable law related to the collection and reporting of any payments or transfers of value to certain healthcare providers and teaching hospitals, which includes, without limitation, the Affordable Care Act of 2010 and its implementing regulations (collectively, "Transparency Laws"). To comply with Transparency Laws, Company may disclose for any lawful purpose, within its sole discretion, the terms of this Agreement, including without limitation, the compensation (including fees and expenses) payable or paid hereunder, or any other transfers of value made pursuant to this Agreement. Company reserves the right to identify in its disclosures any teaching hospital or provider personnel that is a healthcare provider as Company believes is required to satisfy its obligations under Transparency Laws. This identifying information will include, without limitation, names, NPI, licensure number(s), specialty and addresses of healthcare provider and corresponding information for teaching hospitals. Provider acknowledges and agrees on behalf of itself and such Provider personnel to these disclosures. Provider shall, and shall ensure that its personnel reasonably cooperate with Company in meeting its obligations under Transparency Laws.

IHMA Europe Sàrl
Route de l'Île-au-Bois 1A - 1870 Monthey/VS - Switzerland
Tel : +41 (0)24 473 75 10 - Fax : +41 (0)24 473 75 20
www.ihmainc.com



It is further understood that the name of the above mentioned institution or facility may be used in or in conjunction with any publication(s) or presentation(s) pertaining to the data, specimens or materials submitted to IHMA Europe Sàrl without further consent unless permission is specifically denied in writing or by marking the designated blank box below.

[] Please, DO NOT use the name of the institution and/or individual listed in this agreement in conjunction or association with any publication(s) or presentation(s).

If you agree with these terms please sign and complete the information below.

Signed: Stefania Stefani

Print: STEFANIA STEFANI

(This name will appear in any acknowledgments for future publications unless otherwise indicated)

Title: Full professor of Microbiology

Institution: Department of Biomedical and Biotechnological Sciences – Microbiology – University of Catania

(This name will be appear in any acknowledgments for future publications unless otherwise indicated)

Dated: 22 February 2018

**F. HOFFMANN-LA ROCHE
SURVEILLANCE STUDY (# 3261)
STUDY SYNOPSIS**

**“Surveillance study for meropenem/nacubactam and
comparators against Gram-negative bacteria collected in 2018”**

presented by

**IHMA Europe Sàrl
A fully owned subsidiary of International Health
Management Associates, Inc.**

8th February 2018

“Surveillance study for meropenem/ nacubactam and comparators against Gram-negative bacteria collected in 2018”

INTRODUCTION

Nacubactam (RO7079901, RG6080, OP0595, FPI-1459) is a diazabicyclooctane beta-lactamase inhibitor (BLI). The combination of nacubactam with a beta-lactam antibiotic targets severe infections caused by *Enterobacteriaceae* and other Gram-negative bacteria, including multi-drug-resistant strains

F. Hoffmann-La Roche is currently developing nacubactam in combination with meropenem for the treatment of serious bacterial infections.

This study is designed to investigate the *in vitro* activity of meropenem in combination with nacubactam and comparators against Gram-negative bacteria from Europe and the USA collected in 2018.

TEST SITES

The study will involve 80 investigators: 40 USA, 5 each in UK, Germany, Spain, France, Italy, Greece & Turkey, 3 in Romania and 2 in Serbia.

Each investigator will be provided with a study kit which will contain the following:

1. Study Protocol & binder.
2. Study-specific organism report forms (ORFs), including labels for isolate storage and shipment.
3. Tryptic soya broth/glycerol tubes for storage of isolates at -80 °C for the duration of the study.
4. Transport swabs for isolate shipment to IHMA (three shipments).
5. Full packaging for shipment of isolates under IATA UN3733 regulations (three shipments).
6. Shipping will be arranged and funded by IHMA Europe.

TEST ORGANISMS

- All organisms will be collected prospectively over a 1 year period starting in January 2018.
- Isolates will be from urinary tract infection, intra-abdominal infection, pneumonia (HAP/VAP/CAP), bacteremia or skin and skin structure infections only.
 - Investigators should attempt to include isolates evenly from these infections.
- The targeted isolates will include the following per site:

Organism	# per site
<i>Escherichia coli</i>	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
<i>Klebsiella</i> spp. other than <i>K. pneumoniae</i>	5
<i>Enterobacter</i> spp.	10
<i>Citrobacter</i> spp.	5
<i>Serratia</i> spp.	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10
TOTAL	100

- Each isolate will be accompanied with patient demographic information (accession number, collection date, age, gender, specimen source, patient location in hospital and length of stay [≤ 48 h = community-acquired; ≥ 48 h = hospital-acquired]).
 - Investigators will provide this information using study-specific ORFs.
 - Preferably investigators will update IHMA of newly collected isolates monthly via scanned copies by fax or email. As a minimum hard copy ORFs will be included with each isolate shipment.
- Isolates will be shipped to IHMA Europe in up to three batches: April 2018, August 2018 & December 2018.

CENTRAL LABORATORY (IHMA EUROPE)

Isolate receipt

- All organisms received will be sub-cultured and fully identified by MALDI-ToF.
- All valid study-compliant organisms will be analysed.

Susceptibility Testing

MIC determinations for meropenem/ nacubactam and relevant antibacterial comparators will be performed at IHMA Europe by broth microdilution in line with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) susceptibility testing standards [1, 2].

Beta-lactamase characterization

All meropenem-resistant or meropenem/ nacubactam-resistant isolates will be screened for the presence of relevant beta-lactamases by PCR amplification and sequencing to determine enzyme and sub-type.

Enterobacteriaceae and *P. aeruginosa* will be screened for ESBLs (SHV, TEM, LEN, CTX-M, VEB, PER, GES), AmpCs (ACC, CMY I/MOX, CMY II, DHA, FOX, ACT-MIR, PDC) and carbapenemases (KPC, OXA, NDM, IMP, VIM, SPM, GIM).

A. baumannii will first be screened for OXA-23, OXA-24 (also called OXA-40 in older literature) and OXA-58 family genes. If any of these OXA families are found screening will stop. If an OXA is not found, screening will continue for ESBLs (VEB, PER, GES) and other carbapenemases (KPC, NDM, VIM, IMP, SPM).

REFERENCES

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility test for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Edition. M07. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; Informational Supplement. M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.

TIMELINES

1. Collection to begin - January 2018
2. First shipment by end April 2018
3. Second shipment by end August 2018
4. Third shipment by end December 2018
5. Collection to complete - December 2018
6. MIC testing to complete - April 2019



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche

PIANO ECONOMICO PREVISIONALE PER LA DETERMINAZIONE DEL CORRISPETTIVO

(Art.6 del Regolamento per le prestazioni conto terzi)

CORRISPETTIVO	\$ 2.500,00

PROPOSTA DI CONTRATTO DI RICERCA PER:

Surveillance study for
meropenem/nacubactam and
comparators against Gram-negative
bacteria collected in 2018)

RESPONSABILE SCIENTIFICO:

Prof.ssa Stefania Stefani

COMMITTENTE:

IHMA – ROCHE
Surveillance Study

DURATA:

dalla data della sottoscrizione fino al 31
dicembre 2018

SPESE PER RISORSE UMANE INTERNE:

- Compenso al Responsabile scientifico €
- Compensi a Collaboratori €
- Spese per missioni €

€

SPESE PER RISORSE UMANE ESTERNE

- Compensi per contratti di collaborazione €
- Spese per missioni €

€

SPESE PER CONSUMI DI DIRETTA IMPUTAZIONE:

- Materiale di consumo € \$ 2.175,00 € 1.855,56
- Noleggio attrezzature €
- Spese diverse €

€

QUOTE SPESE GENERALI DELLA STRUTTURA

- Utilizzo locali e attrezzature, pulizia, telefoni,
acqua, luce, ecc. (5% del corrispettivo richiesto) \$ 125,00 € 106,64



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche

QUOTA AMMORTAMENTO DELLE IMMOBILIZZAZIONI UTILIZZATE:

Si prevede l'acquisto di:

- n. del valore di €
Quota ammortamento (in base alla durata del contratto)
I anno = % €
II anno = % €

ACCANTONAMENTO FONDO RICERCA DI ATENEO

(quota non inferiore all'1% del corrispettivo richiesto)

\$ 25,00 € 21,33

ACCANTONAMENTO FONDO COMUNE DI ATENEO

(quota pari al 4% del corrispettivo richiesto)

\$ 100,00 € € 85,31

ACCANTONAMENTO PER FONDO SUPPORTO, LEGALE, CONTABILE, FISCALE, DELL'AMM.NE CENTRALE ALLE ATTIVITA' CONTO TERZI

(quota pari all'1% del corrispettivo richiesto)

\$ 25,00 € 21,33

TOTALE COSTI PRESUNTI

\$ 2.450,00 € 2.090,17

UTILE PER LA REALIZZAZIONE DEL SERVIZIO

(quota non inferiore al 2% del corrispettivo richiesto)

\$ 50,00 € € 42,66

TOTALE DEL CORRISPETTIVO AL NETTO DI IVA

\$ 2.500,00 € 2.132,83

FONDO DI RISERVA (4% degli utili)

\$ 2,00 € 1,71



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA

Biometec

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche
Università di Catania



6.7.

Sezione di Biochimica Medica

UNIVERSITA' DI CATANIA		
DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE E BIOTECNOLOGICHE		
Titolo III	Classe 14	Alleg. 1
N° 47304	DATA 08-06-2018	

A: Direttore Dipartimento BIOMETEC
SEDE

Oggetto: Richiesta punto aggiuntivo CdD del 11 Giugno 2018

Caro Direttore,

con la presente si richiede di inserire come punto aggiuntivo del prossimo CdD del 11 Giugno 2018 "Proposta accordo di collaborazione scientifica con l'Università di Foggia". Si allega alla presente, bozza dell'accordo predisposto. Cordiali saluti,

Catania, 07/06/2018

Prof. Giovanni Li Volti

ACCORDO DI COLLABORAZIONE SCIENTIFICA

TRA

L'Università degli Studi di Foggia, per il tramite del Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale (di seguito denominato "Dipartimento di UNIFG") con sede legale in Foggia, via A. Gramsci n. 98/91, C.F./P.IVA 94045260711, nella persona del Rettore, Prof. Maurizio Ricci in qualità di legale rappresentante

E

L'Università degli Studi di Catania, per il tramite del Dipartimento Scienze Biomediche e Biotecnologiche (di seguito denominato "Dipartimento di UNICT"), con sede legale in Catania, Piazza Università, 2, 95131, C.F./P.IVA 02772010878, nella persona del Rettore, Prof. Francesco Basile in qualità di legale rappresentante.

PREMESSO CHE

- L'Università di Foggia attraverso il proprio Dipartimento di UNIFG è impegnata in molteplici settori di ricerca di studio dei meccanismi di progressione tumorale del carcinoma squamoso del cavo orale;
- L'Università di Catania attraverso il proprio Dipartimento di UNICT è impegnata nello studio dei meccanismi biochimici coinvolti nella regolazione dello stato redox delle cellule tumorali;
- E' comune interesse delle due parti formalizzare e sviluppare una collaborazione scientifica, senza che alcuna parte debba corrispondere fondi o beni materiali all'altra, per il perseguimento di più ampi risultati nelle ricerche scientifiche già attivate e in quelle che possono congiuntamente essere attivate.

SI CONVIENE E SI STIPULA QUANTO SEGUE

ART. 1 - Premessa

Le premesse costituiscono parte integrante del presente accordo.

ART. 2 - Finalità

Il Dipartimento di UNIFG e quello di UNICT confermano la volontà di collaborare nella realizzazione di attività di ricerca, studio e formazione nel campo della ricerca dei meccanismi biochimici coinvolti nella progressione del carcinoma squamoso del cavo orale.

ART. 3 - Referenti dell'accordo

Sono nominati referenti del presente accordo:
per il Dipartimento di UNIFG: Prof. Lorenzo Lo Muzio
per il Dipartimento di UNICT: Prof. Giovanni Li Volti

ART. 4 Impegni delle parti

Le Parti metteranno a disposizione proprie risorse strumentali e tecnologiche e proprio personale in relazione alle singole iniziative di collaborazione che saranno attivate, senza che alcuna parte debba corrispondere fondi o beni materiali all'altra e senza ONERI per le istituzioni dipartimentali.

ART. 5 Modalità di attuazione

Per la realizzazione degli obiettivi previsti dal presente accordo, le Parti, con modalità da concordare separatamente da parte dei responsabili scientifici del Dipartimento di UNIFG (Prof. Lorenzo Lo Muzio) e del Dipartimento di UNICT (Prof. Giovanni Li Volti), potranno definire specifici programmi di ricerca che, di volta in volta, dovranno essere approvati dai rispettivi Consigli di Dipartimento.

ART. 6 - Riservatezza

Entrambe le Parti si impegnano ad osservare e far osservare la riservatezza sui fatti, documenti ed elaborati dei soggetti coinvolti nelle singole attività di cui il personale impegnato possa venire a conoscenza durante le collaborazioni, salvo esplicita autorizzazione scritta per casi particolari.

ART. 7 Trattamento dei dati personali

Le parti dichiarano espressamente di essere informate e di acconsentire che i dati personali forniti nel corso dell'esecuzione della Convenzione saranno trattati esclusivamente per le finalità della Convenzione medesima e, in ogni caso, nel

rispetto di tutte le disposizioni dettate dal D.Lgs. 30 giugno 2003 n. 196 (Codice in Materia di Protezione di Dati Personali).

ART. 8 – Gestione della proprietà intellettuale

La proprietà intellettuale dei risultati delle ricerche svolte congiuntamente dalle Parti in attuazione del presente accordo spetta alle stesse in eguale misura.

Tutte le pubblicazioni attinenti a tali ricerche riporteranno menzione della collaborazione tra le Parti e di ciascuna di esse.

Art. 9 - Codice etico e di comportamento

Il Dipartimento di UNIFG dichiara di aver preso visione del Codice etico emanato dall'Università degli Studi di Catania con D.R. n. 2637 del 6.8.2015 e del Codice di comportamento dell'Università degli Studi di Catania emanato con D.R. n. 2352 del 5.6.2014, pubblicati sul sito web dell'Ateneo e di impegnarsi ad osservare e a far osservare ai propri collaboratori, per quanto compatibili con il ruolo e con l'attività svolta, gli obblighi di condotta in essi previsti, nonché di essere consapevole che la violazione di tali obblighi di condotta può costituire causa di risoluzione della presente convenzione, fermo restando l'eventuale risarcimento del danno.

ART. 10 – Copertura assicurativa

Ciascuna Parte, nell'ambito della propria competenza, provvedono all'attuazione di quanto richiesto dalla normativa vigente in materia di rischi, infortuni, salute e sicurezza sui luoghi di lavoro per il personale dipendente o a esso equiparato ivi comprese le coperture assicurative previste per borsisti di ricerca, dottorati e post-dottorati.

Le parti, ognuno per la propria competenza, sono responsabili delle coperture assicurative e dei corsi sulla sicurezza del lavoro secondo la vigente normativa.

Le parti si scambieranno le informazioni sui rischi connessi allo svolgimento delle attività previste nel presente accordo prima del loro inizio. I rispettivi Servizi di Prevenzione e Protezione coopereranno per lo svolgimento di una specifica valutazione, in conformità all'art. 28 del D.Lgs. n. 81/2008, dei rischi relativi alle attività svolte. In caso di personale esterno verrà fornita l'informativa dei rischi presenti in Istituto e contestualmente sarà erogata la formazione specifica.

Ai sensi del D.Lgs. n. 81/2008 e ss.mm.ii., il Personale coinvolto nelle attività oggetto della presente Intesa, si atterrà, in materia di prevenzione e protezione, alle norme e ai regolamenti stabiliti dalle strutture presso le quali opera in quel momento. Impianti, attrezzature, macchine e strumentazioni, messi a disposizione per l'attività scientifica da ciascuna delle Parti, dovranno essere rispondenti a tutte le normative di sicurezza attualmente vigenti ed essere garantiti da apposita copertura assicurativa per i rischi incendio, furto e responsabilità civile verso terzi.

Il personale del Dipartimento di UNIFG e il personale del Dipartimento di UNICT si atterrà alle disposizioni di emergenza (anti-incendio, primo soccorso, eventi naturali eccezionali e terroristici) del contesto presso il quale opera in quel momento. Ciascuna delle Parti provvederà alla copertura assicurativa di legge del proprio personale o a esso equiparato che, in virtù del presente accordo, potrà essere chiamato a frequentare la sede di esecuzione delle attività oggetto del presente accordo.

ART. 11 - Durata

Il presente accordo decorre dalla data della sottoscrizione ed ha la durata di due anni con possibilità di rinnovo previo accordo scritto tra le parti per pari durata se non disdetto da una delle parti a mezzo lettera raccomandata almeno tre mesi prima della scadenza.

Art. 12 - Registrazione

Il presente accordo è soggetto a registrazione solo in caso d'uso ai sensi dell'art. 5 del D.P.R. n. 131/1986 e successive modifiche, e le spese di bollo e di registrazione sono a carico della parte richiedente.

Letto, confermato e sottoscritto.

Catania, li _____

Università degli Studi di Catania
Il Rettore
Prof. Francesco Basile

Foggia, li _____

Il Rettore dell'Università di Foggia,
Prof. Maurizio Ricci

CONTRATTO

La Ditta Chiesi Farmaceutici S.p.A., di seguito denominata "ditta" con sede e domicilio fiscale in Via Palermo 26/A, 43122 Parma, Partita IVA n. 01513360345 in persona del suo Vice-Presidente, Direttore Ricerca & Sviluppo, Dott. Paolo Chiesi

E

L'Università degli studi di Catania, per il tramite del Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, con sede in Piazza Università n. 2, Codice Fiscale 02772010878, rappresentata dal Rettore pro-tempore Prof. Francesco Basile

CONVENGONO E STIPULANO QUANTO SEGUE:

Art.1

Oggetto del contratto

La ditta intende sostenere finanziariamente la ricerca nell'ambito del progetto anti-TRAIL presso il Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, versando un contributo pari ad \$ 580,00 (dollari statunitensi cinquecentottanta/00) per la pubblicazione dell'articolo scientifico "The proinflammatory cytokine GITRL contributes to TRAIL-mediate neurotoxicity in the HCN-2 human neuronal cell line".

La ditta verserà il suddetto contributo che sarà determinato in € non appena l'Università di Catania sarà in possesso della quietanza di pagamento della spesa relativa alla pubblicazione scientifica già istruita con la nota n. 392 del 24 maggio 2018 che fornirà l'esatto ammontare del contributo spettante.

Responsabile scientifico per l'Università è la Prof. G. Cantarella

Art. 2

Impegni dell'Università

Il Dipartimento si impegna a fornire alla ditta un rapporto finale della ricerca e a nominare la ditta, quale ente finanziatore della ricerca, nelle pubblicazioni che esporranno i risultati della ricerca, che saranno di esclusiva spettanza dell'Università.

Art.3

Modalità di pagamento

L'importo del contributo per l'esecuzione delle attività oggetto del presente contratto, è fissato in euro \$ 580,00 (dollari statunitensi cinquecentottanta/00), è esente da IVA e sarà versato dalla ditta all'Università non appena quest'ultima sarà in possesso della quietanza di pagamento della spesa relativa alla pubblicazione scientifica già istruita con la nota n. 392 del 24 maggio 2018 che fornirà l'esatto ammontare del contributo spettante.

Il pagamento del contributo sarà eseguito da parte della ditta sul conto bancario indicato di seguito:

Nome/indirizzo della banca: CREDITO SICILIANO S.P.A.

Titolare del conto: UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA

Numero del conto:

IT79M0301916903000008093104

BIC/SWIFT RSANIT3P

Causale:

CONTRIBUTO ALLA RICERCA PER IL PROGETTO "anti-TRAIL" Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche– UNIVERSITA' DI CATANIA.

Art.4

Codice etico e di comportamento e patto di integrità

La ditta dichiara di aver preso visione del Codice etico emanato dall'Università con D.R. n. 2637 del 6.8.2015 e del Codice di comportamento dell'Università emanato con D.R. n. 2352 del 5.6.2014, pubblicati sul sito web dell'Ateneo NELLA SEZIONE "Amministrazione trasparente".

Il rappresentante legale della ditta si impegna ad osservare e a far osservare ai propri collaboratori, per quanto compatibili con il ruolo e con l'attività svolta, gli obblighi di condotta in essi previsti, nonché di essere consapevole che la violazione di tali obblighi di condotta e delle clausole del patto di integrità costituisce causa di risoluzione della presente convenzione, fermo restando l'eventuale risarcimento del danno.

Art.5

Foro competente

In caso di controversia nell'interpretazione o esecuzione del presente contratto, la questione verrà in prima istanza definita in via amichevole. Qualora non fosse possibile, il foro competente sarà quello competente per legge.

Art.6

Oneri fiscali

La presente convenzione è esente da bollo a norma dell'art. 1 L. 868/70. La presente convenzione sarà registrata gratuitamente, ai sensi degli artt. 3 primo comma, 55, secondo comma e 58, u.c. del d. lgs. n. 346 del 31/10/90, trattandosi di trasferimento a favore di ente pubblico avente per scopo esclusivo l'istruzione e la ricerca scientifica.

Catania li

Per l'Università degli Studi di Catania

Il Rettore

Prof. Francesco Basile

Per la ditta



COMMISSIONE DIDATTICA

Verbale n.7 del 8 giugno 2018

Il giorno 8 giugno 2018, alle ore 12.00, presso i locali del Dipartimento Biometec, Torre Biologica, 6° piano Torre Sud, si riunisce la Commissione Didattica del Dipartimento Biometec, convocata per la trattazione dei seguenti argomenti iscritti all'ordine del giorno:

- 1) Comunicazioni.
- 2) Corsi di Laurea:
 - 2.1 Scienze motorie:
 - a) Ratifica rettifica punto 8.1.2 del verbale del Consiglio Biometec del 14/5/2018 - copertura insegnamento di Pallacanestro (M-Z) - AA 2017/18 - Bando n.1434 del 16 aprile 2018;
 - b) Copertura insegnamento di inquadramento generale (M-Z) (modulo di TTD di sport di squadra - 18 ore (2CFU) - 2° anno - 2° semestre - SSD M-EDF/02 - A.A. 2018/2019;
 - 2.5 Fisioterapia: Copertura insegnamento di Statistica medica Epidemiologica - SSD MED/01 - 4 CFU - 28 ore - 1° anno - 2° semestre - A.A. 2018/2019;
 - 2.6 Biotecnologie Mediche: Copertura insegnamento di Istologia - SSD BIO/17 - dott. Di Rosa Michelino Daniele Antonio - 1° anno - 1° semestre - A.A. 2018/19;
 - 2.7 Regolamenti didattici CdS 2018/19;
 - 2.8 Rinnovo convenzioni con strutture Sanitarie;
- 3) Scuole di Specializzazione:
 - 3.1 Organizzazione didattica Scuole di Specializzazione.

Sono presenti i Proff. Rosario Giuffrida, Giuseppina Cantarella, Maria Pio Furneri, Gabriella Lupo, Maria Francesca Serapide.

Sono assenti giustificati: i Proff. Renato Bernardini, Vittorio Calabrese, Matteo Cioni, Filippo Drago, Fabio Galvano, Lucia Malaguarnera, Teresa Mattina, Salvatore Oliveri, Michele Purrello, Maria Angela Sortino.

Svolge le funzioni di Segretario verbalizzante la Prof.ssa Maria Francesca Serapide.

E' altresì presente il Sig. Grasso Vincenzo, responsabile dell'Ufficio della didattica e dei servizi agli studenti del Biometec.

Constatata la regolarità della convocazione e della seduta, il Prof. R. Giuffrida, nella sua qualità di Presidente, dà inizio ai lavori per la discussione degli argomenti iscritti all'Ordine del Giorno.

1) Comunicazioni.

Il Prof. R. Giuffrida dà lettura della nota prot. 0015464 del 17/5/2018 con la quale il MIUR ha disposto la proroga al 14 giugno p.v. della data di scadenza di compilazione della SUA-CdS A.A. 2018/2019.

2) Corsi di Laurea:

2.1 Scienze motorie:

a) Ratifica rettifica punto 8.1.2 del verbale del Consiglio Biometec del 14/5/2018 - copertura insegnamento di Pallacanestro (M-Z) - AA 2017/18 - Bando n.1434 del 16 aprile 2018;
Ratifica nota del Direttore del Biometec: le ore corrette da mettere a bando sono 16 e non 32 come erroneamente riportato in verbale.

La Commissione Didattica esprime parere favorevole.

b) Copertura insegnamento di inquadramento generale (M-Z) (modulo di TTD di sport di squadra - 18 ore (2CFU) - 2° anno - 2° semestre - SSD M-EDF/02 - A.A. 2018/2019;
Richiesta bando a seguito della rinuncia al rinnovo del contratto da parte del dott. Orazio Daniele Alabiso.

La Commissione Didattica esprime parere favorevole.

2.5 Fisioterapia: Copertura insegnamento di Statistica medica Epidemiologica - SSD MED/01 - 4 CFU - 28 ore - 1° anno - 2° semestre - A.A. 2018/2019;

Richiesta bando a seguito della rinuncia al rinnovo del contratto da parte del dott. Vincenzo Guardabasso.

La Commissione Didattica esprime parere favorevole.

2.6 Biotecnologie Mediche: Copertura insegnamento di Istologia - SSD BIO/17 - Dott. Di Rosa Michelino Daniele Antonio - 1° anno - 1° semestre - A.A. 2018/19;

A seguito della presa di servizio in data 4/6/2018 del Dott. Di Rosa Michelino Daniele Antonio in qualità di ricercatore a T.D.A. e della contestuale rinuncia alla co-docenza della Prof.ssa Paola Castrogiovanni, la Commissione Didattica propone l'affidamento dell'insegnamento di Istologia - SSD BIO/17 - 3 CFU - 31 ore - 1° anno - 1° semestre - A.A. 2018/19 al Dott. Di Rosa Michelino Daniele Antonio, dichiaratosi disponibile a ricoprirlo quale carico didattico,.

2.7 Regolamenti didattici CdS 2018/19;

Il Presidente espone alla Commissione i regolamenti didattici proposti dai sotto riportati CCdL, che vengono allegati al presente verbale, ivi compresi i nuovi corsi di nuova istituzione:

LM-9 Biotecnologie Mediche

LM-67 Scienze e Tecniche delle Attività Motorie Preventive e Adattate

L-22 Scienze Motorie

L-SNT2 Fisioterapia

L-SNT2 Ortottica ed Assistenza Oftalmologica

L-SNT2 Terapia Occupazionale

L-2 Biotecnologie

La commissione Didattica esprime parere favorevole all'approvazione dei suddetti regolamenti che saranno trasmessi dato agli uffici dell'Area della Didattica.

2.8 Rinnovo convenzioni con strutture Sanitarie;

La Commissione Didattica esprime parere favorevole al rinnovo delle convenzioni proposte dai Presidenti dei Corsi di laurea in Fisioterapia (verbale del 5/6/18) e in Ortottica ed Assistenza Oftalmologica (Omissis del 15/5/2018) (Allegati).

2.9 assegnazione risorse "Fondi per il sostegno dei giovani e per favorire la mobilità degli studenti" CdA del 26/03/2018.



Il Presidente ricorda che ciascun Ateneo eroga assegni per l'incentivazione delle attività di tutorato di cui all'articolo 13 della legge 19 novembre 1990, n. 341, nonché per le attività didattiche integrative, propedeutiche e di recupero, agli studenti capaci e meritevoli iscritti ai corsi di laurea magistrale, ai corsi di laurea magistrale a ciclo unico (limitatamente agli iscritti al 4°- 5° o 6° anno), alle scuole di specializzazione per le professioni forensi, alle scuole di specializzazione per gli insegnanti della scuola secondaria, ai corsi di dottorato di ricerca.

Fa presente, che con nota del 10/04/2018, prot.49487 il Dirigente dell'Area Finanziaria ha comunicato l'assegnazione al Biometec della somma di € 5.224,05 "Fondi per il sostegno giovani e per favorire la mobilità degli studenti" A.F. 2017 (CdA del 26/03/2018) - codice di riclassificazione finanziaria 15043753/18, intervento n.22976/1 - UPB726002018.

A questa assegnazione possono essere aggiunte le somme residue relative a precedenti periodi - come specificato nel sotto riportato prospetto:

Residuo risorse 2012 e 2013 (nota Afi 37553/05-04-2017)

- 447,11 (imp. 44620-1/16)
- 1.407,53 (imp. 44622-1/16)
- 2.185,11 (imp. 44624-1/16)

Totale residui

€ 4.039,75

Residuo risorse 2016

€ 700,26 (nota Afi 27/04/2017 prot.45068 - riclassif. Finanz. 55043753 - int. N.61904/1). Si evidenzia che i contratti a valere sui fondi 2016 devono improrogabilmente concludersi entro il 30/11/2018.

Il totale complessivo disponibile (residui: € 4.740,01; nuova assegnazione: € 5.224,05) risulta pertanto di **Euro 9.964,06**

La commissione propone, pertanto, di bandire n. 6 contratti per 167 ore ciascuno, che comporterebbero una spesa complessiva di euro **9.909,78**

La Commissione propone di riservare la partecipazione al suddetto bando (di cui si allega la bozza) agli studenti regolarmente iscritti per l'anno accademico 2017/2018 ai Corsi di:

- Dottorato di Ricerca internazionale in Neuroscienze;
- Dottorato in Basic and applied Biomedical Sciences;
- Dottorato di Ricerca in Biotecnologie.

2.10 Piano di interventi per l'utilizzo assegnazioni risorse programmazione strategica triennale 2016/2018 - A.A. 2018/19 - C.d.A. 20/04/2018 per la realizzazione di attività di supporto alla didattica:

La Commissione Didattica presa visione della nota prot.64335 del 14/5/2018 di assegnazione della somma di € 19.236,58 destinate alle attività in oggetto, propone di utilizzare le suddette somme sulla base di quanto previsto dal nuovo regolamento di recente approvazione da parte del



S.A. e di chiedere ai Presidenti dei Corsi di laurea afferenti al Biometec di avanzare le proprie richieste che potranno essere soddisfatte tenendo conto del numero degli studenti iscritti a ciascun corso di laurea.

3) Organizzazione didattica Scuole di Specializzazione.

a) Concorso per l'ammissione alle Scuole di Specializzazione di area sanitaria riservato ai laureati non medici - Bando 1509 del 19/4/2018: Commissioni esaminatrici.

Il Presidente comunica che i Coordinatori delle Scuole in oggetto hanno proposto le seguenti Commissioni:

Farmacologia e tossicologia clinica

Prof. Renato Benardini,

Prof.ssa Giuseppina Cantarella

Prof.ssa Giovanna Blandino

Prof.ssa Maria Fiore

Prof.ssa Bianca Marchetti

Docenti supplenti: Prof.ssa Nunziata Barbera

Genetica Medica (nota del 07/06/2018)

Prof.ssa Teresa Mattina MED/03 Genetica medica, Presidente

Prof.ssa Vincenza Barresi BIO/12 Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica,

Prof. Marco Fichera MED/03 Genetica medica,

Prof.ssa Livia Manzella MED/05 patologia clinica,

Prof. Massimo Libra MED/04 Patologia Generale,

Docenti supplenti: Prof. Andrea Di Cataldo MED/38 Pediatria Generale e Specialistica e

Prof. Paolo Vigneri MED/06 Oncologia medica

Patologia Clinica e Biochimica Clinica (Verbale del 5 giugno 2018).

Prof. Vittorio Calabrese, Prof. Riccardo Ientile, Prof.ssa Gabriella Lupo, Prof.ssa Livia

Manzella, Prof.ssa Angela Trovato Salinaro.

Docenti supplenti: Prof.ssa Lucia Malaguarnera, Prof.ssa Daniela Caccamo, Prof.ssa Vincenza Barresi

Microbiologia e Virologia (Verbale del 5 giugno 2018).

Proff. Salvatore Oliveri (presidente); Guido Scalia, Stefania Stefani, Maria Antonietta Toscano, Maria Lina Mezzatesta (componenti);

Docenti supplenti: Prof. Ildebrando Patamia e Prof. Mario Salmeri

La Commissione Didattica ne prende atto.

b) Patologia Clinica e Biochimica Clinica- Date esami di profitto e di diploma e nomina Commissione (Verbale del 5 giugno 2018).

Area medica:

- esame di profitto teorico-pratico 2° e 3° anno: 23 Ottobre 2018, ore 10,00;

- esame di profitto teorico-pratico 4° anno: 6 Dicembre 2018, ore 10,00;

- esame finale di diploma: 12/12/2018, ore 12,00- Aula Magno Torre Biologica

- Commissione esami di diploma: Proff. Vittorio Calabrese, Roberto Avola, Riccardo Ientile, Livia Manzella, Lucia Malaguarnera, Trovato Salinaro Angela e Nicoletti Vincenzo.
Sostituti: i Proff. Massimo Libra e Prof.ssa Gabriella Lupo

Area non medica:

- esame di profitto teorico-pratico 1° anno: 21 Settembre 2018, ore 10,00;

- esame finale di diploma: 29/06/2018, ore 11,00;

La Commissione Didattica ne prende atto.

c) Patologia Clinica e Biochimica Clinica: Rinnovo convenzione in scadenza e stipula nuova convenzione con l'ASP Caltagirone (Verbale del 5 giugno 2018);

Il Prof. Giuffrida, sulla base di quanto evidenziato nel suddetto verbale del 5 giugno 2018, riferisce che la Scuola di Specializzazione in Patologia Clinica e Biochimica Clinica, ha proposto:

il rinnovo delle seguenti convenzioni:

- ASP di Ragusa – Laboratori di analisi e di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale dei PP.OO. “Maggiore” di Modica, “Civile” e “Maria Paternò Arezzo” di Ragusa;
- ASP di Catania – U.O. di Patologia Clinica del P.O.S. Marta e Venera di Acireale;
- A.O. Cannizzaro di Catania – Laboratorio di analisi e Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale;
- ARNAS Garibaldi di Catania – Laboratorio di analisi, U.O. di Patologia Clinica del P. O. Garibaldi Nesima e Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale de P.O. Garibaldi Centro;
- Hmanitas Catania;

la stipula di nuova convenzione:

- ASP di Catania - P.O. “Gravina” di Caltagirone - U.O. di Patologia Clinica. Il tutor individuato è il Responsabile del Laboratorio analisi Dott. Domenico Neri.

La Commissione Didattica esprime parere favorevole e raccomanda che l'ulteriore documentazione richiesta sia inoltrata agli Organi e Uffici competenti direttamente dal Direttore della Scuola.

d) Patologia Clinica e Biochimica Clinica: 8TH International Congress of Phatophysiology (ICP 2018), Bratislava (Slovacchia)

Il Presidente, sulla base di quanto evidenziato nel suddetto verbale del 5 giugno 2018, riferisce che i dottori Giovanni Brunetti, Paolo Danilo Cannizzaro, Maria Concetta Scuto, Alessandra Polimeni, Gabriele Di Rosa, Sergio Modafferi sono stati autorizzati a partecipare all'8TH International Congress of Phatophysiology (ICP 2018), Bratislava (Slovacchia) dal 5 all'8 settembre 2018. I Dott.ri Alessandra Polimeni, Gabriele Di Rosa, Sergio Modafferi sono stati selezionati come giovani ricercatori per 3 comunicazioni orali.

La Commissione Didattica ne prende atto.



e) Farmacologia - Date esami di profitto e di diploma e nomina Commissione (nota del 21 maggio 2018).

Area medica:

- esame di profitto teorico-pratico 5° anno: 26 Luglio 2018, ore 10,00;
 - esame finale di diploma: 5/09/2018, ore 10,00- Aula Magno Torre Biologica
 - Commissione esami di diploma: Proff. Maria Angela Sortino, Claudio Bucolo, Santina Chiechio, Mariangela Chisari, Giammarco Leggio, Edoardo Spina (ME), Vincenzo Arcoraci (ME) Manzella, Lucia Malaguarnera, Trovato Salinaro Angela e Nicoletti Vincenzo.
- Sostituti: i Proff. Gioacchino Calapai (ME), Letteria Minutoli (ME), Filippo Caraci (ME)
La Commissione Didattica ne prende atto.

f) Microbiologia e Virologia Clinica: Rinnovo convenzione in scadenza (nota del 7 giugno 2018).

ARNAS Garibaldi CT

AO Cannizzaro Catania

La Commissione didattica esprime parere favorevole

g) Microbiologia e Virologia Clinica: Data esami di profitto:

3° anno area non medica: 22 giugno 2018

La Commissione Didattica ne prende atto.

h) Genetica Medica: Rinnovo convenzione in scadenza (nota del 7 giugno 2018).

IRCS Oasi Maria S.S. - Troina

La Commissione Didattica ne prende atto.

i) Medicina Fisica e Riabilitativa: Programmazione didattica 2016/2017 - Ratifica

Nota Direttore Biometec 71271 del 28/5/2018 allegata.

La Commissione Didattica esprime parere favorevole.

l) Medicina Fisica e Riabilitativa: Copertura insegnamento di inglese scientifico - Bando 1884 del 21/05/2018:

Una istanza: Nicoletta Rita Cirauco.

La Commissione didattica verificato il possesso dei requisiti di idoneità propone la stipula del contratto.

m) Scienza dell'alimentazione: Programmazione didattica erogata 2016/17 e 2017/2018 - Ratifica

Nota Direttore Biometec 66305 del 17/5/2018 allegata.

La Commissione Didattica esprime parere favorevole.

Non essendovi null'altro da discutere e deliberare il Presidente dichiara chiusa la seduta alle ore 13,55.

Il presente verbale viene approvato seduta stante.

IL SEGRETARIO

(Prof.ssa Maria Francesca Serapide)

IL PRESIDENTE

(Prof. Rosario Giuffrida)